



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN
DE SACAROSA EN LA MIEL FINAL OBTENIDOS A TRAVÉS DE UTILIZAR
TRES METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS DIFERENTES, EN UN INGENIO
AZUCARERO GUATEMALTECO**

Mariandré Ramazzini Ortega

Asesorado por el Ing. José Abel Lima Godínez

Guatemala, septiembre de 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN
DE SACAROSA EN LA MIEL FINAL OBTENIDOS A TRAVÉS DE UTILIZAR
TRES METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS DIFERENTES, EN UN INGENIO
AZUCARERO GUATEMALTECO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

MARIANDRÉ RAMAZZINI ORTEGA

ASESORADO POR EL ING. JOSÉ ABEL LIMA GODÍNEZ

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Ing. José Milton de León Bran
VOCAL IV	Br. Jorgen Andoni Ramírez Ramírez
VOCAL V	Br. Oscar Humberto Galicia Nuñez
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
EXAMINADORA	Inga. Cinthya Patricia Ortiz Quiroa
EXAMINADORA	Inga. Adela María Marroquín González
EXAMINADOR	Ing. Jaime Domingo Carranza González
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE SACAROSA EN LA MIEL FINAL OBTENIDOS A TRAVÉS DE UTILIZAR TRES METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS DIFERENTES, EN UN INGENIO AZUCARERO GUATEMALTECO

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha junio de 2016.



Mariandré Ramazzini Ortega



FIUSAC

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA.

Edificio T-5, Ciudad Universitaria, zona 12, Guatemala, Centroamérica

Guatemala 8 de Agosto del 2017

Ingeniero

Carlos Salvador Wong Davi

Director de Escuela de Ingeniería Química


Universidad de San Carlos de Guatemala

Respetable Ingeniero Wong:

Con un cordial saludo me dirijo a usted para informarle que he asesorado el diseño de investigación del Trabajo de Graduación titulado: **"ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE SACAROSA EN LA MIEL FINAL OBTENIDOS A TRAVÉS DE UTILIZAR TRES METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS DIFERENTES, EN UN INGENIO AZUCARERO GUATEMALTECO."** desarrollado por la estudiante de ingeniería química, Mariandré Ramazzini Ortega, que se identifica con el número de DPI 2415841910101 y el número de carné 2012-13229.

Después de haber leído y realizado las correcciones pertinentes de dicho trabajo, considero que llena los requisitos exigidos para su aprobación.

Atentamente:



Ing. Qco. José Abel Lima Godínez
Colegiado No. 1633
Asesor

José Abel Lima Godínez
Ingeniero Químico
Colegiado No. 1633



Guatemala, 22 de agosto de 2017.
Ref. EIQ.TG-IF.034.2017.

Ingeniero
Carlos Salvador Wong Davi
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Wong:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **012-2016** le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por la estudiante universitaria: **Mariandré Ramazzini Ortega**.
Identificada con número de carné: **2012-13229**.
Previo a optar al título de **INGENIERA QUÍMICA**.

Seguendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE SACAROSA EN LA MIEL FINAL OBTENIDOS A TR VES DE UTILIZAR TRES METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS DIFERENTES, EN UN INGENIO AZUCARERO GUATEMALTECO

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por el Ingeniero Químico: **José Abel Lima Godínez**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Estuardo Edmundo Monroy Benítez
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo



Ref.EIQ.TG.044.2017

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante, **MARIANDRÉ RAMAZZINI ORTEGA** titulado: **"ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE SACAROSA EN LA MIEL FINAL OBTENIDOS A TRAVÉS DE UTILIZAR TRES METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS DIFERENTES, EN UN INGENIO AZUCARERO GUATEMALTECO"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

"Id y Enseñad a Todos"

Ing. Carlos Salvador Wong Davi
Director
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, septiembre 2017

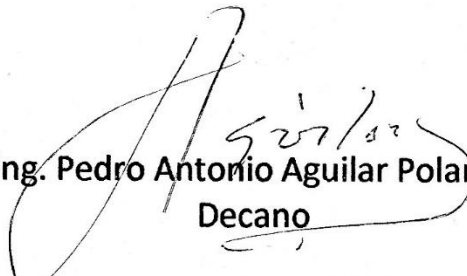
Cc: Archivo
CSWD/ale



DTG. 438.2017

El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE SACAROSA EN LA MIEL FINAL OBTENIDOS A TRAVÉS DE UTILIZAR TRES METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS DIFERENTES, EN UN INGENIO AZUCARERO GUATEMALTECO**, presentado por la estudiante universitaria: **Mariandré Ramazzini Ortega**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:


Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
Decano

Guatemala, septiembre de 2017

/gdech



ACTO QUE DEDICO A:

Dios	Por bendecirme a lo largo de la vida y por hacer realidad este sueño
Mis padres	Rosa María Ortega y Hugo Ramazzini por su amor y apoyo incondicional a través de este tiempo.
Mis hermanas	Mariaelena y Nicole Ramazzini por ser mi motivación y mi inspiración.
Mis abuelas	María Elena Sagastume y María Elena Mollinedo (q.e.p.d) por ser mis ángeles de vida.
Mis tíos	Abel Lima y Claudia Oliva por toda la ayuda brindada, ser mi inspiración y un ejemplo que seguir.
Mis primos	Alejandra y Rodrigo Lima, por su apoyo y todas las alegrías brindadas.
Mis amigos	El honor de tener su amistad es todo mío, gracias por todo, son los mejores.

AGRADECIMIENTOS A:

Dios	Por tu amor y bondad, por darme aliento para alcanzar este logro.
Mi familia	Porque todo lo que soy se los debo a ustedes y nada me hace más feliz que honrarlos con este gran logro.
Mis amigos	Javier, Jocelyne, Jennifer, Ricardo, Ángel y Oscar por su amistad, el apoyo y los excelentes momentos compartidos.
José Abel Lima	Por ser una importante influencia y apoyarme a lo largo de toda la carrera.
Ronmell Fuentes	Por ser un gran apoyo a lo largo de la carrera, por tu cariño y ser un ejemplo que seguir para mí.
Universidad de San Carlos de Guatemala	Por ser la institución que me formó profesionalmente.
Ingenio Magdalena S.A.	Por colaborar para la concreción de esta tesis.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	V
LISTA DE SÍMBOLOS.....	VII
GLOSARIO.....	VIII
RESUMEN.....	XV
OBJETIVOS	XVII
HIPÓTESIS	XIX
INTRODUCCIÓN.....	XXI
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Proceso de obtención de la miel final -melaza-	3
2.1.1. Recepción y preparación	3
2.1.2. Molienda o extracción de jugo.....	4
2.1.3. Clarificación	4
2.1.4. Evaporación.....	6
2.1.5. Cristalización	6
2.1.6. Centrifugación.....	6
2.2. Miel final -melaza-.....	7
2.2.1. Azúcares presentes en la miel final.....	8
2.2.1.1. Sacarosa.....	8
2.2.1.2. Glucosa.....	9
2.2.1.3. Fructosa.....	10
2.3. Azúcares reductores y no reductores.....	11
2.4. Descomposición de azúcares reductores	11

2.5.	Inversión de la sacarosa	12
2.6.	Cenizas condumétricas	13
2.7.	Recuperación de sacarosa en las mieles finales	13
2.8.	Métodos analíticos	13
2.8.1.	Polarimetría	13
2.8.1.1.	Principios de sacarimetría.....	14
2.8.1.2.	Luz polarizada	14
2.8.1.3.	Actividad óptica.....	15
2.8.1.4.	Capacidad rotatoria específica.....	15
2.8.1.5.	Polarímetro	16
2.8.2.	HPLC.....	17
2.8.2.1.	Cromatografía de intercambio iónico ...	19
2.8.2.2.	Fundamento	19
2.8.2.3.	Cromatografía de exclusión molecular	20
2.8.3.	Clerget.....	21
2.9.	Grados Brix (°Bx)	21
2.10.	Pol (%)	22
2.11.	Pureza.....	22
2.12.	Pureza objetivo de Smith	23
2.13.	Análisis de varianza	23
2.14.	Diagrama de control o Shewart	24
2.15.	Análisis de costos y beneficios	25
3.	METODOLOGÍA	27
3.1.	Variables	27
3.2.	Delimitación del problema	27
3.3.	Recursos humanos disponibles.....	28
3.4.	Recursos materiales disponibles	28

3.4.1.	Equipo	28
3.4.2.	Materiales	28
3.5.	Técnica cuantitativa	29
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información	29
3.6.1.	Ubicación y recolección de muestras	29
3.6.2.	Proceso de recolección de muestras	29
3.6.3.	Identificación y control de muestras	30
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información	30
3.8.	Análisis estadístico	31
3.8.1.	Varianza.....	31
3.9.	Plan de análisis de los resultados	31
3.9.1.	Pureza	31
3.9.2.	Pureza objetivo de Smith	31
3.10.	Programas a utilizar para análisis de datos.....	32
4.	RESULTADOS.....	33
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	47
	CONCLUSIONES	51
	RECOMENDACIONES.....	53
	BIBLIOGRAFÍA.....	55
	APÉNDICES.....	57
	ANEXOS	59

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Estructura química de la sacarosa	9
2.	Estructura química de la glucosa	10
3.	Estructura química de la fructosa	11
4.	Luz polarizada por polarímetro	14
5.	Instrumento polarimétrico	17
6.	High Performance Liquid Chromatography	18
7.	Reacción intercambio iónico	19
8.	Diagrama de control de Shewart	25
9.	Diagrama de control de pureza para las tres metodologías	37
10.	Diagrama de control de pureza para la metodología por polarización	38
11.	Diagrama de control de pureza para la metodología por HPLC	39
12.	Diagrama de control de pureza para la metodología Clerget	40
13.	Pureza objetivo y pureza por metodología HPLC	41

TABLAS

I.	Variables con sus unidades de medida respectivas	27
II.	Equipo a utilizar para tratamiento de muestras	28
III.	Datos de los parámetros analizados en cada muestra	30
IV.	Pureza aparente, real y Clerget	33
V.	Pureza objetivo	35
VI.	Análisis de varianza entre Clerget y HPLC	42
VII.	Análisis de varianza entre Clerget y polarímetro	43

VIII.	Análisis de varianza entre HPLC y polarímetro	44
IX.	Análisis de costos y beneficios para metodologías HPLC y Clerget.....	45

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
BC	Análisis costo beneficio
C.V.	Coeficiente de variación
D	Densidad
F	Fructosa
G	Glucosa
pH	Grado de acidez o basicidad
°Bx	Grados Brix
°C	Grados Celsius
°F	Grados Fahrenheit
g	Gramos
LIC	Límite inferior de control
LSC	Límite superior de control
Λ	Longitud de onda
mol	Mol
nm	Nanómetro
%Pol	Porcentaje en peso de la sacarosa
P	Pureza
α	Rotación del azúcar
F	Valor crítico

GLOSARIO

Actividad óptica	Propiedad de los cuerpos que permiten girar el plano de polarización de la luz que los atraviesa.
Azúcares invertidos	Son los azúcares que se producen por hidrólisis de la sacarosa en cantidades iguales, glucosa y fructosa, con poder rotatorio invertido.
Azúcares reductores	Azúcares que poseen un grupo carbonilo, la glucosa y la fructosa son ejemplos de ellos.
Bagazo	Residuo de materia después de extraer el jugo a la caña de azúcar.
<i>Buffer</i>	Solución amortiguadora que consiste en una mezcla de un ácido débil y su base conjugada, la cual tiene la propiedad de mantener estable el pH frente a cantidades pequeñas de bases y ácidos fuertes.
Cachaza	Torta de filtro obtenida tras la salida de los filtros el cual es un residuo en la industria del azúcar de caña.
Centrifugación	Método por el cual es posible la separación de sólidos de líquidos de diferente densidad por medio de fuerza giratoria.

Clarificadores	Máquinas que se utilizan para separar sólidos de un líquido por medio de gravedad y los movimientos del agua haciendo que los sólidos floten o se hundan dependiendo de la gravedad.
Cristalización	Método de purificación por el cual se produce un sólido cristalino a partir de un gas o líquido.
Cromatografía líquida	Técnica de separación por medio de adsorción entre dos fases inmiscibles, una fija y otra móvil.
Dextrógiro	Giro de una sustancia en sentido de las agujas del reloj.
Elución	Proceso por el cual los solutos son arrastrados a través de una fase estacionaria por el movimiento de la fase móvil.
Eluyente	Disolvente que se usa para transformar los componentes de una mezcla a través de una fase estacionaria.
Enantiómero	Son imágenes especulares no superponibles, poseen un átomo unido a cuatro grupos distintos.
Fase estacionaria	Partículas sólidas o líquidas empaquetadas en una columna.
Filtro tambor rotativo	Máquinas utilizadas para la separación sólido líquido, en donde la pulpa es separada por una tela filtrante

girada con el vacío aplicado a la superficie interna para acumular los sólidos del otro lado de la tela.

Flóculos	Grumo de materia formada por coloides los cuales se decantan y se filtran para limpiar las aguas.
Grados baume	Es la unidad de medida de la densidad de un líquido para medir la azucaridad o salinidad de una solución.
Hexosa	Monosacáridos formados por una cadena de seis átomos de carbono el cual produce energía.
Imbibición	Para mejorar la extracción de sacarosa, se aplica agua de imbibición. Este proceso consiste en agregar agua al bagazo antes de su paso por el molino final. La imbibición aumenta la extracción de sacarosa en aproximadamente un 15%.
Inversión de sacarosa	Descomposición hidrolítica de la sacarosa en glucosa y fructosa.
Levógiro	Giro de una sustancia en sentido contrario de las agujas del reloj.
Maceración	Este es un proceso que busca aumentar la extracción, mediante el remojo del bagazo con el jugo diluido.

Mazas	Son cilindros acanalados contruidos de hierro fundido y acero con un peso de aproximadamente 10 toneladas.
Meladura	Jarabe preparado para elaborar el azúcar.
Melaza	Residuos de la cristalización final, denominada miel final.
Poder rotatorio	Propiedad e ciertas sustancias para desviar la luz polarizada.
POL	Es la sacarosa contenida en una disolución, expresada en % en peso.
Polarimetría	Es la medición de la rotación de las sustancias activas en un plano de luz polarizada.
Polarización	Fenómeno que se define como el desplazamiento de las partículas que oscilan, formando así un plano de vibración.
Pureza	Es la cantidad de sacarosa contenida en 100 partes de sólidos totales.
Rotación específica	Número de grados que el plano gira a medida que pasa a través de una solución con enantiómeros.

Sacárido	Biomolécula compuesta por carbono, hidrógeno y oxígeno, se encuentra la glucosa, fructosa y sacarosa.
Tachos	Equipos que se utilizan en la industria azucarera para la cocción de la meladura y las mieles provenientes de las centrifugas para obtener granos de azúcar tras la cristalización.
Tandem	Molino donde existen mazas o rodillos que comprimen el azúcar.
Tiempo de elusión	Tiempo que tarda cada sustancia en abandonar el sistema cromatográfico, depende de cada compuesto.
Torre de sulfatación	Equipo en donde se mezcla el jugo mixto proveniente de los molinos con el dióxido de azufre (S_2O).
Troseadoras	Máquinas utilizadas para romper y desfibrar los tallos de caña de azúcar.

RESUMEN

El proyecto de investigación tuvo como objetivo comparar tres metodologías instrumentales que permiten determinar la cantidad de sacarosa presente en una solución. Estas se utilizaron para determinar la cantidad de azúcar que se pierde en la miel final, mejor conocida como melaza.

Para esto se tomaron muestras de los últimos 40 días de la zafra 2016-2017 del Ingenio Magdalena y estas se analizaron mediante las metodologías, Clerget, Polarización y HPLC con el fin de obtener la concentración de la solución y calcular así la cantidad de azúcar que se pierde en dicho subproducto.

Con estos datos se buscó realizar un análisis de varianzas el cual se utilizó para comparar las metodologías y decidir cuál de estas ofrece una mayor precisión. Además, fue necesario inquirir si el proceso de agotamiento de sacarosa se perpetuo de forma adecuada, esto por medio de una comparación con la pureza objetivo o teórica. Al mismo tiempo se buscó comparar estas metodologías por medio de diagramas de proceso y observar como la concentración de la sacarosa fluctuó a lo largo de los 40 días.

Por último, se realizó un análisis de costos/beneficios para determinar si la metodología Clerget proporcionó una precisión similar a la que se obtiene con HPLC, pero con cualidades de mayor rapidez y menor costo.

OBJETIVOS

General

Comparar los datos obtenidos en el monitoreo de la concentración de sacarosa en la miel final-melaza- obtenidos mediante tres metodologías analíticas instrumentales diferentes.

Específicos

1. Calcular la pureza aparente, real y Clerget a partir de los resultados de la concentración de sacarosa en la miel final generados por cada metodología instrumental.
2. Calcular la pureza objetivo de Smith a partir de los resultados de cenizas condumétricas y el contenido de glucosa y fructosa en la miel final.
3. Clasificar los datos de pureza aparente, real y Clerget en un diagrama de control para el método de Polarización, Clerget y HPLC.
4. Comparar la pureza generada por el método de HPLC con la obtenida con la pureza objetivo de Smith.
5. Realizar un análisis estadístico de varianzas simples, anova, con los datos de pureza obtenidos para cada método instrumental.

6. Determinar por medio de un análisis de beneficios y costos si la metodología Clerget es superior respecto a costos y rapidez en comparación con la metodología por HPLC.

HIPÓTESIS

Clerget es una metodología analítica que se utiliza para la cuantificación de la concentración de sacarosa presente en la miel final -melaza- la cual brinda una precisión similar a la que se obtiene con HPLC, pero con mayor rapidez y a un menor costo.

Hipótesis estadística

Clerget-HPLC

Hipótesis nula

No existe variación significativa en la respuesta obtenida de los tratamientos por el método Clerget y HPLC respecto a la concentración de sacarosa presente en la miel final -melaza-.

Hipótesis alternativa

Existe variación significativa en la respuesta obtenida de los tratamientos por el método Clerget y HPLC respecto a la concentración de sacarosa presente en la miel final -melaza-.

Clerget-polarización

Hipótesis nula

No existe variación significativa en la respuesta obtenida de los tratamientos por el método Clerget y polarización respecto a la concentración de sacarosa presente en la miel final -melaza-.

Hipótesis alternativa

Existe variación significativa en la respuesta obtenida de los tratamientos por el método Clerget y polarización respecto a la concentración de sacarosa presente en la miel final -melaza-.

HPLC-polarización

Hipótesis nula

No existe variación significativa en la respuesta obtenida de los tratamientos por el método HPLC y polarización respecto a la concentración de sacarosa presente en la miel final -melaza-.

Hipótesis alternativa

Existe variación significativa en la respuesta obtenida de los tratamientos por el método Clerget y polarización respecto a la concentración de sacarosa presente en la miel final -melaza-.

INTRODUCCIÓN

Los ingenios azucareros buscan transformar la caña de azúcar en azúcar en forma de pequeños cristales; para llevar a cabo este proceso de transformación se realizan una serie de procesos los cuales permiten obtener el resultado final que hoy conocemos. En el proceso de fabricación se tienen ciertos subproductos los cuales presentan pérdidas, donde la mayoría de estas no son recuperables por medios industriales. Uno de los subproductos que se produce en volumen alto y presenta la mayor pérdida de azúcar es la miel final o mejor conocida como melaza. Este líquido viscoso es un subproducto obtenido tras el proceso de cristalización y centrifugación.

Los ingenios azucareros presentan el problema de cómo saber qué cantidad de sacarosa se pierde en dichos subproductos, por esta razón se ha incursionado en técnicas instrumentales para determinar cuanta de esta se pierde. Actualmente, para medir la cantidad de sacarosa en la miel final se utiliza la técnica de polarización, dicha técnica hace uso de la actividad óptica de la sacarosa para realizar esta medición. Una segunda opción es la determinación por medio de cromatografía líquida de alta precisión, conocida como HPLC, en donde es posible hallar los componentes de una solución por la diferencia en su tiempo de elusión. Por último, se tiene una tercera opción, la cual no es muy utilizada en los ingenios guatemaltecos, denomina Clerget. La técnica Clerget consiste en una doble polarización en donde el principio de esta es complementar la polarización directa con una segunda polarización después de la completa inversión de la sacarosa.

Debido a que los ingenios buscan aplicar uno de estos métodos para conocer si su proceso de cristalización es el más eficiente, es necesario conocer cuál de los tres ofrece una mayor precisión en el menor tiempo posible, bajo el criterio de la mejor economía posible.

Por dicha razón el presente trabajo de investigación tiene como objetivo conocer cuál de las tres metodologías mencionadas, polarización, HPLC o Clerget, presenta una mejor precisión mediante un análisis de varianzas simples a partir del cálculo de pureza de los datos proporcionados.

Por último, se busca realizar un análisis de costos para conocer que metodología es más rápida y económicamente factible entre Clerget y HPLC para aplicar en el ingenio en lugar de la metodología actualmente utilizado.

1. ANTECEDENTES

El artículo presentado por Love y Muzzell “explica los grandes problemas del azúcar perdido que afecta al agotamiento de las fábricas en los ingenios azucareros. En dicho artículo consideran que cuantas más impurezas existan en los jugos, mayor será la pérdida de sacarosa, y lo que las industrias deben hacer es revisar sus parámetros de operación para acercarse así a un valor guía de la cantidad de sacarosa que debería tener la miel final”.¹

Actualmente en los ingenios se utilizan distintas metodologías para determinar la cantidad de azúcar perdida, pero no se sabe cuál ofrece mejores resultados respecto a precisión, tiempo y economía. Según el trabajo presentado por Herrera, acerca de la comparación de métodos útiles en la determinación de sacarosa y azúcares reductores en miel de caña en el ingenio Pichichí Colombia, “busca evaluar la precisión de la determinación del contenido de sacarosa en la miel virgen por medio del método polarimétrico y cromatografía líquida de alta resolución. Dicho estudio muestra la comparación de ambos métodos, obteniéndose así una mejor precisión con el método polarimétrico comparado con el de HPLC”.²

El trabajo de Estrada sobre la comparación de métodos analíticos para la calidad de la caña de azúcar “busca evaluar la precisión de las lecturas

¹ LOVE, D.J. *Minimizing sucrose loss in final molasses: the three laws of molasses loss*. p.319-330

² HERRERA, Ana Cecilia. *Estudio comparativo de métodos para la determinación de sacarosa y azúcares reductores en miel virgen de caña utilizados en el ingenio Pichichí* S.A. p.19-66

polarimétricas a través de la exactitud, precisión y linealidad de las mediciones de concentración de sacarosa. Su estudio mostró que a un nivel de confianza del 95% las lecturas obtenidas por el polarímetro son exactas y precisas y la linealidad del mismo es muy cercana a 1".³

Por último, el trabajo presentado por López B. acerca del análisis de mieles finales de ingenios de Guatemala para la zafra 2013-2014 "realiza una comparación de los distintos procedimientos para obtener el contenido de azúcar por medio de polarimetría, Clerget y HPLC. Concluyendo que la metodología Clerget es mucho más factible técnica y económicamente que las otras dos mencionadas".⁴

Luego de realizar investigaciones de los tesorios y documentos virtuales no se encontraron trabajos realizados respecto a la comparación de métodos instrumentales utilizados para el monitoreo de la sacarosa presente en la miel final.

La finalidad de la investigación presente es realizar una comparación entre las metodologías instrumentales (polarización, HPLC y Clerget) ya que se desea conocer cuál de estas es más precisa y económicamente factible.

³ ESTRADA, Marvin. *Comparación de cinco métodos analíticos para determinar la calidad de la caña de azúcar*. p. 31-26

⁴ LÓPEZ, Byron. *Análisis de mieles finales de ingenios de Guatemala para la zafra 2013-2014 y su comparación con la pureza objetivo por la ecuación de SMITH-VERSION* 2015. p. 14-20

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Proceso de obtención de la miel final -melaza-

Esto se da a partir del proceso de fabricación del azúcar, en el cual se aplican varias operaciones para convertir el jugo de caña en pequeños cristales, para esto se cosechan cultivos de caña, tras su maduración esta se corta y se recoge mecánicamente para luego llevarla a los patios de los ingenios y poder iniciar la transformación. El proceso consta de los siguientes procesos:

2.1.1. Recepción y preparación

La caña que esta plantada en el campo es transportada por los camiones hasta el ingenio; una vez dentro se pesa en básculas y luego se descarga en mesas de alimentación por medio de viradores, en dichas mesas se aplica agua caliente entre 110-120 °F para que así se eliminen impurezas, sales, sólidos y materiales extraños, además permite que el proceso se realice de forma limpia.

La caña que ha sido cosechada es transportada al ingenio o antes de iniciar el proceso de fabricación es pesada en básculas para luego ser descarta por medio de viradores en mesas alimentadores. En las mesas alimentadores se limpia la caña, para retirar la mayor cantidad de material extraño y permitir que se inicie el proceso de la forma más limpia posible.

Una vez limpia la caña se desfibran los tallos por medio de troceadoras o picadoras para facilitar el proceso de extracción de jugo.

2.1.2. Molienda o extracción de jugo

Este proceso se realiza moliendo la caña previamente preparada a través de pesados rodillos o mazas. El molino consta de unidades múltiples que utilizan combinaciones generalmente de tres rodillos, a través de los cuales pasan sucesivamente la caña exprimida o bagazo. Para ayudar a la extracción del jugo se aplican aspersiones de agua o jugo diluido sobre la capa de bagazo según sale de cada unidad de molienda; lo anterior contribuye a extraer por lixiviación el azúcar. El proceso, conocido como imbibición (o, con menor frecuencia, saturación o maceración), puede presentar muchas modificaciones. En las prácticas de molienda, más eficientes, más del 95% del azúcar contenido en la caña pasa al jugo, este porcentaje se conoce como la extracción o más sencillamente la extracción.

El bagazo final que sale del último molino contiene el azúcar no extraído, fibra leñosa y de 45 a 55 % de agua. Este material pasa por lo general a las calderas como combustible.

2.1.3. Clarificación

El jugo obtenido pasa por calentadores en donde se aumenta la temperatura de 140-155 °F para pasar a la torre de sulfatación, en donde se busca disminuir el pH mediante la adición de azufre, agente decolorante, y cal de 6-10 baume para producir azúcar blanco. Luego, el jugo se calienta en tres etapas: la primera mediante vapor vegetal de 5 psi logrando temperaturas entre 175-185 °F, la segunda con vapor a 5 psi logrando temperaturas entre 205-215 °F y la última con vapor a 10 psi para la rectificación del jugo automáticamente. Esto se realiza con el fin de lograr una pequeña evaporación

en un tanque flash logrando que los flóculos presenten burbujas evitando que se decante con lentitud.

El jugo obtenido se introduce a los clarificadores con baja velocidad para que se concentren los lodos y se retiren por gravedad y coladores viratorios. Los lodos atrapados se filtran en tambores rotativos al vacío mientras que el jugo filtrado regresa al proceso y la torta de prensa, subproducto obtenido, es desechado como cachaza el cual es útil como fertilizante.

El jugo procedente de los molinos es ácido y turbio. El proceso de clarificación (o defecación), diseñado para remover las impurezas tanto solubles como insolubles, emplea en forma universal cal y calor como agentes clarificantes. Para la fabricación de azúcar blanco directo y en el caso de azúcar crudo de bajo color, es utilizado el bióxido de azufre. La lechada de cal, con una concentración de 6 a 10° Baumé, neutraliza la acidez del jugo, formando sales insolubles de calcio, en su mayor parte fosfato de calcio. El calentamiento del jugo alcalizado hasta el punto de ebullición o ligeramente arriba coagula la albúmina y algunas grasas, ceras y gomas; el precipitado así formado atrapa los sólidos en suspensión al igual que las partículas más finas.

Los lodos se separan del jugo clarificado por sedimentación para luego ser filtrados, ya sea en filtros rotativos a vacío, filtros banda u otra tecnología de filtración de cachaza (en algunas plantas se utilizan decantadores centrífugos). Se ha desarrollado una amplia variedad de modificaciones del tratamiento del jugo con calor, sulfito y cal, las cuales tiene diferentes ventajas y desventajas.

2.1.4. Evaporación

El jugo clarificado, que tiene más o menos la misma composición que el jugo crudo extraído excepto las impurezas precipitadas por la clarificación, contiene aproximadamente 85% de agua. Dos terceras partes de esta agua se evaporan en evaporadores de múltiple efecto, los cuales consisten en una sucesión, generalmente 5 efectos, de celdas de ebullición al vacío o cuerpos dispuestos en serie de manera que cada cuerpo subsiguiente tiene un grado más alto de vacío y, por consiguiente, hierve a una temperatura más baja. Los vapores de un cuerpo hacen hervir, de esta manera, el jugo contenido en el siguiente cuerpo, mediante este sistema, el vapor introducido en el primer cuerpo efectúa una evaporación de múltiple efecto. El vapor del cuerpo final pasa a un condensador. El jugo concentrado, conocido como meladura, sale en forma del último cuerpo con una concentración media de 65 °Brix.

2.1.5. Cristalización

Operación en donde busca producir un sólido, a partir de una fase homogénea. Esto se realiza en tachos al vacío de simple efecto donde se añaden semillas a fin de que sirvan como núcleos para la formación de cristales de azúcar y se añade el jarabe proveniente tras la evaporación, los cristales y el jarabe forman una masa cocida llamada fillmass y estas se descargan en un cristalizador para que la masa se coccione y se sature de azúcar.

2.1.6. Centrifugación

La masa cocida proveniente del cristalizador se lleva a maquinas giratorias denominadas centrifugas en donde el licor madre pasa por una pared perforada debido a la fuerza centrífuga y los cristales son retenidos dentro del

revestimiento. Este sistema consta de tres etapas, la primera es una ebullición del jarabe crudo en donde se produce azúcar cruda y miel A, las cuales regresan al tacho al vacío para que vuelvan a hervir y se forma una masa cocida B la que a la vez produce una segunda carga de cristales. El azúcar A y B se mezclan y la miel B vuelve a hervir para formar una masa cocida C. El azúcar C obtenido se mezcla con el jarabe y se utiliza como semilla para las masas cocida A y B.

Las mieles o melazas finales, un material denso y viscoso que posee una tercera parte de sacarosa, una quinta parte de azúcares reductores y el resto ceniza, compuestos orgánicos no azúcares y agua.

2.2. Miel final -melaza-

La miel final, denominada "*blackstrap*" o "melaza" es un líquido denso y viscoso que se separa de la masa cocida final de la cual no es posible cristalizar más azúcar por métodos físicos. Esta posee sólidos disueltos de 68-75 % y un pH de 5,0-6,1. El proceso para obtenerla es repetido tres veces hasta el punto donde los azúcares invertidos y las altas viscosidades no permitan más crecimiento de sacarosa.

Esta mezcla posee sacarosa, azúcares invertidos, sales, compuestos no fermentables reductores y otros compuestos solubles en álcali; estos compuestos no fermentables son generalmente caramelos sin nitrógeno producidos por el calentamiento del proceso.

Según Chrochet existen diversas clasificaciones de mieles finales según la cantidad de °Brix que contengan, estos son:

- Miel final: producto de la fabricación o refinación de la caña de azúcar, Brix, diluido con un peso igual de agua, 42,5 (85 °Brix).
- Miel de caña para alimentos: miel final reducida con agua hasta una proporción no menor de 39,75 °Brix por el método de doble dilución.
- Miel de alta pureza o siropes invertidos: producto que se obtiene concentrando jugo clarificado hasta aproximadamente 85 Brix, invertido ya sea con ácido o invertasa con 80 °Brix.

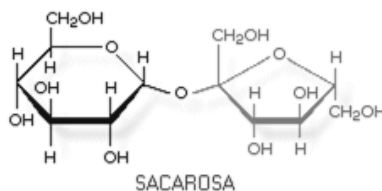
2.2.1. Azúcares presentes en la miel final

Los principales azúcares presentes son la sacarosa, glucosa y fructosa, las últimas dos constituyen la porción principal de los azúcares reductores.

2.2.1.1. Sacarosa

Disacárido que se encuentra en la naturaleza, se obtiene de la caña de azúcar y la remolacha. Consta de un enlace de una glucosa ciclada, con el carbono anomérico en posición α y una fructosa ciclada con el carbono anomérico en posición β . Así podemos decir que la sacarosa es una α -D-glucopiranososa (1 \rightarrow 2) β -D-fructofuranósido la cual no posee poder reductor debido a que no tiene carbono anomérico libre. Su fórmula empírica es $C_{12}H_{22}O_{11}$ (peso molecular 342,30 g/mol). Disuelta en agua esta tiene un poder rotatorio de +66,53 grados a 20 °C, es solo ligeramente soluble en metanol e insoluble en éter o cloroformo. Cuando se hidroliza, la sacarosa produce cantidades equimolares de glucosa y fructosa, y la mezcla se conoce como azúcar invertida.

Figura 1. **Estructura química de la sacarosa**



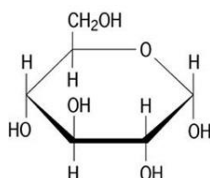
Fuente: BADUI, Salvador. *Química de los Alimentos*. <http://www.hablemosclaro.org>.

Consulta: marzo 2016.

2.2.1.2. Glucosa

La glucosa es una aldohexosa, monosacárido de seis átomos de carbono con un grupo funcional aldehído de gran importancia ya que es precursora de otros carbohidratos y moléculas. También es conocida como dextrosa. Su fórmula molecular es $C_6H_{12}O_6$ (peso molecular 180,16 g/mol), recibe el nombre de D-glucopiranos. Es menos soluble en agua que la sacarosa y es soluble en metanol e insoluble en éter. Disuelta en agua, tiene poder rotatorio de +52,7 grados a 20 °C. Es importante tener en cuenta que estas presentan un fenómeno denominado mutarrotación, es decir, la rotación específica cambia cuando la solución queda en reposo por algún tiempo, la mayoría de las soluciones de las hexosas y pentosa presenta esta condición.

Figura 2. **Estructura química de la glucosa**



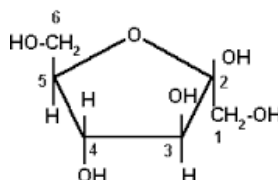
Fuente: MÉNDEZ, Ángeles. *Hidratos de carbono*. <http://quimica.laguia2000.com>.

Consulta: marzo 2016.

2.2.1.3. **Fructosa**

La fructosa es una cetohehexosa, monosacárido de seis átomos de carbono con un grupo funcional cetona. Es muy abundante en la naturaleza; se forma durante la degradación de la glucosa. También se denomina azúcar de frutas y de las tres es la menos abundante en la caña. Sus moléculas se polimerizan para formar leván e insulina un producto de almacenamiento de ciertas plantas. También es conocido levulosa. Su fórmula empírica es $C_6H_{12}O_6$ (peso molecular 180,16g/mol) y es conocida como-D- fructopiranososa y la β -D- fructopiranososa. Es muy soluble en agua y ligeramente soluble en etanol. Igual que la glucosa, la fructosa es un azúcar reductor. Disuelta en agua tiene un poder rotatorio de -132,2 grados, disminuye a -92,4 grados, siendo este último el valor que se usa en la polarimetría de azúcares.

Figura 3. **Estructura química de la fructosa**



Fuente: MANZANO, Tatiana. *Protocolo alimentario: La dieta eficiente*.

<http://protocoloalimentario.blogspot.com>. Consulta: marzo 2016.

2.3. **Azúcares reductores y no reductores**

Un azúcar reductor es un término químico para un azúcar que puede donar electrones a otra molécula. Es un tipo de carbohidrato que contiene un grupo aldehído o cetona libre. Estos son todos los monosacáridos, azúcares simples, como la glucosa y fructosa. Su estructura simple les permite descomponerse al doble de velocidad que los disacáridos, mientras que los disacáridos deben descomponerse en partes más pequeñas primero.

Mientras que los no reductores, los disacáridos y polisacáridos son azúcares con múltiples anillos químicos, tienen estructuras cerradas y utilizan átomos libres para unir entre sí los anillos múltiples, tardan mucho más tiempo en descomponerse.

2.4. **Descomposición de azúcares reductores**

En el proceso de fabricación de azúcar se tiene una alcalización del jugo elevada debido al exceso de cal. Esta facilita la destrucción de azúcares reductores, ya que de esta forma se descompone la sacarosa presente en el

jugo, formando ácidos orgánicos que provocan un desdoblamiento de esta para alcanzar un nuevo equilibrio con la fructosa y glucosa.

Cuando se añade cal en exceso se produce un oscurecimiento mayor en los jugos, lo que causa un aumento en las cenizas y azúcares reductores. También aumentan las incrustaciones dentro de los evaporadores y la viscosidad de la meladura provocando un aumento en las pérdidas totales de la misma.

Por último, las altas temperaturas son otro factor que aumenta la destrucción de azúcares reductores.

2.5. Inversión de la sacarosa

La inversión de la sacarosa consiste en la hidrólisis de su molécula ya sea por vía enzimática o por procedimientos fisicoquímicos. Se llama inversión porque se observa un cambio en la rotación, cuando esta se invierte se tiene un giro de 20 grados. Este fenómeno produce un sabor dulce y un aumento en la solubilidad debido a que la fructosa que queda libre es más soluble que la sacarosa lo cual permite el incremento de la concentración de azúcares en una solución. Este azúcar sufre descomposiciones a largo del proceso de fabricación por la acción de los álcalis y del calor lo que provoca una aparición de compuestos que acentúan el color oscuro de las disoluciones.

Este fenómeno ocurre también cuando la cachaza no es eliminada en forma continua y eficiente, ya que se fermenta por acción de bacterias y genera pérdidas de sacarosa. Como consecuencia se tiene una acidificación del jugo que contribuye a la reacción de inversión.

2.6. Cenizas condumétricas

También se llaman cenizas gravimétricas o cenizas sulfatadas. Son una medida más real de la cantidad de minerales volátiles que se pueden presentar en la melaza.

2.7. Recuperación de sacarosa en las mieles finales

Por definición no es recuperable por medios corrientes, pero en la actualidad han surgido varios procedimientos para la detección del azúcar presente en las soluciones finales. Estos métodos se basan en la medición de la actividad óptica utilizando el principio de la polarización del azúcar para conocer la concentración de la misma.

2.8. Métodos analíticos

2.8.1. Polarimetría

Es una técnica que se basa en la medición de la rotación óptica de la luz polarizada al pasar por una sustancia ópticamente activa la cual se fundamenta en la simetría de las moléculas. Está compuesto por un polarizador, prisma que utiliza radiación, un detector y una fuente, radiación monocromática.

Este método brinda resultados correctos cuando no están presentes sustancias ópticamente activas con excepción a la sacarosa.

2.8.1.1. Principios de sacarimetría

La rotación es una medida precisa de la concentración de sacarosa y cuando un rayo de luz pasa a través de una solución de azúcar, la rotación cambia con la concentración de la solución, la longitud de celda, la longitud de onda de la luz y la temperatura. Ahora si se tiene longitud de celda constante y la longitud de onda de la luz, la temperatura, el peso y el volumen son estándar la rotación se vuelve en función de la concentración.

2.8.1.2. Luz polarizada

La luz es una onda electromagnética cuyo vector eléctrico oscila en diferentes direcciones en ángulo recto respecto a la dirección de propagación. Estos rayos de luz poseen vibraciones que se propagan en número infinito de planos. Cuando un dispositivo óptico permite que un rayo de luz vibre solo en un plano se dice que la luz está polarizada.

Figura 4. Luz polarizada por polarímetro



Fuente: ORTEGA, Mario. *Luz polarizada*. <http://www.paralelo36andalucia.com/>.

Consulta: mayo 2016.

2.8.1.3. Actividad óptica

La actividad óptica rotativa de una sustancia se fundamenta en la asimetría que tienen las moléculas, generalmente son los átomos de carbono, a esto se le llama quiralidad. Se denomina quiralidad al fenómeno de una molécula la cual es una imagen espejo y no puede superponerse con ella misma.

2.8.1.4. Capacidad rotatoria específica

Número que expresa la capacidad de hacer girar el plano de polarización y esta se calcula:

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{100\alpha}{CL} = \frac{100\alpha}{^{\circ}BDL}$$

Donde:

α = rotación medida (grados)

C= concentración del azúcar (g/100 ml de solución)

$^{\circ}B$ = Brix de la solución (g de azúcar/ g de solución)

D= densidad de la solución (g de solución/ml de solución)

L= longitud de la celda (decímetros)

T= temperatura

Λ = longitud de onda

La rotación específica depende de la longitud de onda de luz que se utilice y de la temperatura a la cual se mida. Usualmente se utiliza la luz brillante amarilla denominada línea D a temperatura de 20 °C.

2.8.1.5. Polarímetro

El polarímetro es un instrumento utilizado para determinar la rotación de la luz polarizada causada por isómeros. Este proporciona el valor de la desviación de la luz polarizada ya que los rayos de luz atraviesan un filtro polarizador para obtener una luz con ángulo recto. Esta luz atraviesa un portamuestras el cual contiene la solución a analizar. Si existe un isómero en disolución la luz se desvía, es decir, ira girando a medida que pasa a través del tubo. La luz girará en dirección de las manecillas del reloj, es decir, en dirección positiva, o en dirección contraria, dirección negativa. Una sustancia que gira la luz polarizada en dirección de las manecillas del reloj se llama dextrorrotatorio (R) y la que gira en dirección contraria es levorrotatoria (S).

Generalmente, el aparato consta de una lámpara de vapor de sodio en donde se selecciona la línea "D" (589 nm.), una vez la luz esta polarizada la radiación producida penetra un tubo portamuestras donde se encuentra la solución por analizar. Este tubo posee una longitud conocida y se le denomina "camino óptico específico". Al final hay un segundo filtro polarizador denominado "analizador" el cual se puede rotar. El operador puede controlar dicho ángulo α aplicando su ocular, buscando la máxima luminosidad. Los filtros polarizador y analizador se llaman primas de Nicol.

Figura 5. **Instrumento polarimétrico**



Fuente: SCHMIDT HAENSH. *Actividad óptica de los monosacáridos*.

<https://schmidt-haensch.com/products/laboratory-instruments/polarimeter/>.

Consulta: mayo 2016.

2.8.2. HPLC

“High Performance Liquid Chromatography”, cromatografía líquida de alta precisión es un método instrumental utilizado para separar los componentes de una mezcla. Este método presenta una fase móvil constituida por un líquido que fluye a través de una columna y se introduce a alta presión para forzar el paso del disolvente a través de una fase fija. De esta manera se logran separaciones de gran resolución.

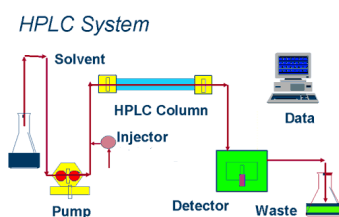
Se inyectan pequeños volúmenes de analito a la corriente de fase móvil, fase polar, la cual es bombeada hasta una columna de fase estacionaria, fase apolar; el analito introducido se retarda por las diferentes interacciones químicas. Este retardo se denomina tiempo de retención el cual es distinto para cada analito de la muestra. Dependiendo de la afinidad, por cada una de las fases se tendrán velocidades y tiempos de retención diferentes logrando así la separación.

Con esta técnica se introduce la fase móvil, que arrastra la muestra que se inyecta. Siguiendo este flujo se llega a la columna, fase estacionaria, la cual es un sólido o un líquido fijado en un sólido. Luego de que los componentes hayan atravesado la fase estacionaria son separados y estos pasan a un detector de señal que identifican el momento de aparición de los distintos componentes que constituyen a la muestra. El principio de esta técnica se fundamenta en las interacciones hidrofóbicas que resultan de la repulsión entre el disolvente polar y el componente apolar.

La única condición de los HPLC es que la muestra que se inyecta sea soluble en la fase móvil. Los azúcares son muy solubles en agua y se logra una separación efectiva. Esta es muy utilizada para determinar las pérdidas que se tienen en los subproductos de los ingenios ya que una de las cualidades más importante de los HPLC es su alta sensibilidad y fácil adaptación.

Para analizar la glucosa, fructosa y sacarosa se utiliza la metodología expuesta por ICUMSA (20) la cual combina los métodos cromatográficos de exclusión por tamaño e intercambio iónico.

Figura 6. **High Performance Liquid Chromatography**



Fuente: THYROCARE. *High Performance Liquid Chromatography*. <http://www.thyrocare.com>.

Consulta: mayo 2016.

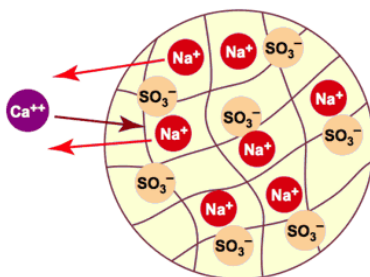
2.8.2.1. Cromatografía de intercambio iónico

Esta técnica permite la separación de moléculas por medio de la diferencia de sus propiedades de carga eléctrica. Se compone de dos fases, la fase estacionaria, intercambiador iónico y la fase móvil. La fase estacionaria contiene en su superficie cargas electrostáticas fijas que retienen contraiones móviles que se pueden intercambiar por iones de la fase móvil.

2.8.2.2. Fundamento

El principio básico se fundamenta en que las moléculas cargadas se adhieren a los intercambiadores de modo que las moléculas pueden ser disociadas cambiando el ambiente iónico. La separación se lleva a cabo en dos fases: en la primera, las sustancias por separar se unen al intercambiador utilizando condiciones que originan una unión fuerte, la segunda consiste en la elución de la columna con *buffers* de diferentes pH o diferente fuerza iónica, compitiendo por los componentes del buffer con el material por los sitios de unión.

Figura 7. Reacción intercambio iónico



Fuente: FRANCOIS, Jean. *El intercambio iónico principios básicos*. <http://dardel.info>.

Consulta: marzo 2016.

El intercambiador iónico es una matriz porosa a la cual se le unen moléculas pequeñas que entran en los poros y son retenidos por la fase estacionaria. La columna utilizada para analizar los azúcares se denomina Sugar-PAK, esta posee una resina catiónica, es decir, que el intercambiador está cargado negativamente. Estos contraiones pueden ser intercambiados en forma reversible con otros iones de la misma carga sin alterar la estructura de la matriz.

2.8.2.3. Cromatografía de exclusión molecular

Esta técnica permite la entrada de ciertas moléculas en la fase estacionaria, a menudo un gel o material poroso dejando fuera otras de mayor tamaño. Esta cromatografía se realiza en columnas cilíndricas rellenas de geles y es la fase estacionaria. La fase móvil arrastra la mezcla y, dependiendo de la afinidad de ambas fases, se dará la separación. Las moléculas de mayor tamaño que los poros no pueden entrar y siguen su camino. Las moléculas que penetran el gel se ven retrasadas en su descenso quedan atrapadas por su menor tamaño en la fase estacionaria.

El tiempo de elución es proporcional al peso molecular de los mismos, por lo que no es muy usada en compuestos de alto peso molecular. Este tipo de interacción difiere de las demás técnicas ya que no existen interacciones físicas o químicas entre el analito y la fase estacionaria.

En resumen, los factores que determinan la separación de las moléculas son el tamaño del poro, el tamaño de la partícula y el flujo de elución.

2.8.3. Clerget

El método Clerget completa la polarización directa con una segunda polarización después de la completa inversión de la sacarosa. La rotación de los azúcares diferentes a la sacarosa permanece constante y el cambio de la lectura en el polariscopio antes y después de la inversión se debe a la inversión de la sacarosa.

Para calcular la sacarosa se divide el cambio de la lectura del polariscopio entre la constante de Clerget. La constante expresa la diferencia en las lecturas polarimétricas de la sacarosa pura. Es necesario realizar una corrección en la temperatura a la cual se ha tomado la lectura.

Este método se puede realizar por medio de la invertasa y el ácido clorhídrico. El método con invertasa es mucho más exacto pero la preparación de los reactivos es costosa.

Este método ofrece poca exactitud cuándo se tienen soluciones difíciles de polarizar, por ejemplo, las melazas, ya que estas contienen en su máxima expresión impurezas y la concentración de la sacarosa es relativamente baja en dicha solución.

2.9. Grados Brix (°Bx)

Los grados Brix miden el cociente total de sacarosa disuelta en un líquido. Estos se miden por medio de un sacarímetro donde se mide la gravedad específica. Para expresar cuántos grados Brix posee una solución solo hay que saber la cantidad de azúcar en gramos por 100 g de líquido. Para calcular dicho valor se utiliza la ecuación:

$$^{\circ}Bx = \frac{\text{gramos de azucar } g}{100 \text{ g de solucion}}$$

2.10. Pol (%)

Es la cantidad de sacarosa contenida en una disolución expresada en % peso la cual es posible determinar por un polarímetro. En soluciones puras %Pol equivale a la cantidad de sacarosa total. En otras sustancias impuras, como el jugo de caña y las mieles, que contienen otras sustancias ópticamente activas, existirá una diferencia la cual es mayor, por lo tanto, el valor de Pol es aceptado internacionalmente como sacarosa aparente.

2.11. Pureza

La pureza es la cantidad de sacarosa en 100 partes, Pol (%) de sólidos totales, expresada en porcentaje. Para calcular dicho valor se utiliza la ecuación:

$$P = \frac{Pol(\%)}{^{\circ}Brix} * 100$$

La pureza es la medida que proporciona la cantidad de impurezas disueltas en el jugo.

2.12. Pureza objetivo de Smith

Es la cantidad de sacarosa que se debe obtener según la cantidad de glucosa y fructosa que tenga el analito a analizar.

$$\text{Pureza objetivo} = 43,1 - 17,5(1 - e^{-0,74(\frac{F+G}{A})})$$

La pureza es la medida que proporciona la cantidad de impurezas disueltas en el jugo.

2.13. Análisis de varianza

El análisis de varianza (ANOVA) de un factor es una herramienta utilizada para comparar varios grupos respecto a una variable cuantitativa. Esta prueba busca realizar un contraste de igualdad de medias para dos o más poblaciones. Las hipótesis se formulan de la siguiente manera:

1. $H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$
2. $H_1 = \text{Al menos dos medias poblacionales son distinta}$

Esta prueba requiere el cumplimiento de:

- Cada conjunto de datos debe ser independiente del resto.
- Los resultados obtenidos para cada conjunto deben seguir una distribución normal.

- Las varianzas de cada conjunto de datos no deben diferir de forma significativa.

2.14. Diagrama de control o Shewart

Diagrama estadístico de control para medias, utilizado para:

- Detectar señales de inestabilidad
- Identificar cambios de variabilidad en la variable
- Identificar cambios en la media de la variable

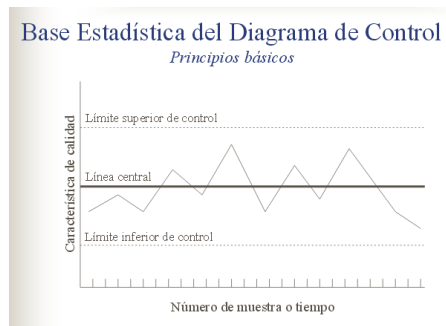
Estos gráficos se fundamentan en la normalidad de los resultados respecto a la media, se utiliza cuando se lleva a cabo un análisis bajo influencias de variación, en donde el proceso se ve afectado por errores aleatorios que conducirán a una distribución normal de los resultados. Este gráfico posee límites los cuales se calculan:

$$\text{Límite inferior y superior de control} = \bar{X} \pm 3S$$

$$\text{Límite inferior y superior de control} = \bar{X} \pm 3S$$

Se dice que el proceso está bajo control si los resultados obtenidos siguen las características de una distribución normal, es decir por debajo del límite superior y por encima del límite inferior.

Figura 8. **Diagrama de control de Shewart**



Fuente: HERNÁNDEZ, Macario. *Optimización y Estadística*.

<https://optyestadistica.wordpress.com>. Consulta: marzo 2016.

2.15. **Análisis de costos y beneficios**

El análisis de costos/beneficios se utiliza para tomar decisiones cuando se necesitan comparar dos o más ideas, proyectos, disciplinas. Este presenta los costos involucrados en el proceso, así como los beneficios en términos de dinero. El objetivo de esto es comparar las soluciones con sus beneficios y determinar la mejor alternativa para implementar en el campo de acción. Los pasos son los siguientes:

- Establecer el punto de vista desde el cual los costos y beneficios serán analizados.
- Reunir datos de factores importantes.
- Determinar los costos relacionados con cada factor.
- Sumar los costos totales para cada decisión propuesta.
- Determinar los beneficios en quetzales para cada decisión.
- Poner las cifras de los costos y beneficios totales de la forma:

$$\text{Análisis BC} = \frac{\text{Beneficios}}{\text{Costos}}$$

- Comparar las relaciones Beneficios/Costos para las diferentes propuestas.
- Se elige como la mejor solución, en términos financieros, a aquella con la relación más alta.

Para una conclusión acerca de la viabilidad de un proyecto, bajo este enfoque, se debe tener en cuenta la comparación de la relación B/C hallada, es decir:

$B/C > 1$ indica que los beneficios superan los costos, por consiguiente, el proyecto debe ser considerado.

$B/C = 1$ Aquí no hay ganancias, pues los beneficios son iguales a los costos.

$B/C < 1$, muestra que los costos son mayores que los beneficios, no se debe considerar.

3. METODOLOGÍA

3.1. Variables

Tabla I. Variables con sus unidades de medida respectivas

Parámetro	Símbolo	Unidad de medida
Pureza	P	Adimensional
Sacarosa	Pol	Porcentaje
Brix	°B	°Bx
Media	\bar{X}	Adimensional
Varianza	σ^2	Adimensional
Glucosa	G	Porcentaje
Fructosa	F	Porcentaje

Fuente: elaboración propia.

3.2. Delimitación del problema

El estudio se limita al monitoreo que realiza el ingenio Magdalena, Escuintla Guatemala, acerca de la concentración de sacarosa presente en las miel final -melaza- (%Pol) de los últimos cuarenta días de zafra del período 2016-2017, utilizando los métodos instrumentales por polarización, HPLC y Clerget.

3.3. Recursos humanos disponibles

Desarrollo del proyecto: Mariandré Ramazzini Ortega, estudiante de la carrera de Ingenier  Química.

Asesor: José Abel Lima Godínez, Ingeniero Químico.

Ensayos: Laboratoristas del Ingenio Magdalena.

3.4. Recursos materiales disponibles

3.4.1. Equipo

Equipo utilizado para análisis estadístico

Tabla II. **Equipo a utilizar para tratamiento de muestras**

No.	Equipo
1	Computadora
2	Herramientas de análisis de datos de Excel
3	Herramienta de gráficos de Excel

Fuente: elaboración propia.

3.4.2. Materiales

Materia prima necesaria para realizar el estudio: datos de  Brix, Pol (%), glucosa, fructosa, sacarosa y cenizas condumétricas generados por el polarímetro, HPLC y Clerget, para obtener los resultados de pureza por cada

método y determinar la pérdida en la miel final, así como los datos de sacarosa mínima en la miel final.

3.5. Técnica cuantitativa

Esta investigación es de carácter cuantitativo ya que se analizarán los valores generados por las tres metodologías instrumentales, °Brix y Pol (%), los cuales se utilizarán para calcular la pureza para cada método y así, realizar una comparación por medio de un análisis estadístico y un diagrama de Shewart. Esto determinará qué método ofrece mayor precisión y es más práctico para determinar la cantidad de sacarosa perdida en la miel final. Para un mejor análisis también se calculará la sacarosa mínima que puede existir en la miel final para una mejor comparación entre estas metodologías.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

3.6.1. Ubicación y recolección de muestras

La recolección de datos se realizará en el laboratorio del Ingenio Magdalena, a partir de muestras tomadas luego de la centrifugación de la masa “C”.

3.6.2. Proceso de recolección de muestras

Se recolectarán los datos generados por refractómetro, polarímetro, HPLC y la metodología Clerget, estos son: °Brix, Pol. (%) de 40 muestras tomadas en los últimos días de la zafra 2016-2017 del Ingenio.

3.6.3. Identificación y control de muestras

Las muestras se identifican dependiendo de la metodología utilizada y se ordenarán por fecha, hora de muestreo y el día de zafra. Es importante tomar en cuenta el nombre del laboratorista que realizó el ensayo, así como las observaciones que este presentó.

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

Los datos tabulados son referentes para 40 muestras que serán analizadas para la comparación de cada metodología analítica.

Tabla III. Datos de los parámetros analizados en cada muestra

Parámetro	Resultado de análisis
% Brix ($^{\circ}\text{Bx}$)	
Pol (% de sacarosa)	
Fructosa (% de fructosa)	
Glucosa (% de glucosa)	
Pureza objetivo	
Pureza aparente	
Pureza Real	
Pureza Clerget	
Media (\bar{x})	
Varianza (σ^2)	

Fuente: elaboración propia.

3.8. Análisis estadístico

El carácter de la investigación incluye un análisis estadístico para la comparación de los valores de pureza obtenidos por tres metodologías instrumentales diferentes. Por lo tanto, se realizará un análisis de varianzas simples.

3.8.1. Varianza

La varianza es la media aritmética del cuadrado de las desviaciones respecto a la media de una distribución estadística.

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}$$

3.9. Plan de análisis de los resultados

El carácter cuantitativo de la investigación indica la utilización de ecuaciones diseñadas para determinar la pureza presente en la miel final. Estas se determinan a partir de las siguientes ecuaciones:

3.9.1. Pureza

$$Pureza = \left(\frac{Pol(\%)}{^{\circ}Brix} \right) * 100$$

3.9.2. Pureza objetivo de Smith

$$Pureza\ objetivo = 43,1 - 17,5(1 - e^{-0,74\left(\frac{F+G}{A}\right)})$$

3.10. Programas a utilizar para análisis de datos

Para ejemplificar de la metodología de cálculo de las purezas, aparente, real y Clerget, la pérdida de sacarosa en la miel final y la desviación estándar de los resultados, se utilizarán los siguientes programas:

- Microsoft Word: redacción de resultados.
- Microsoft Excel: creación de gráficos, tabla de datos, resultados, análisis estadístico.

4. RESULTADOS

- Cálculo de la pureza aparente, real y Clerget generados por cada metodología instrumental.

Tabla IV. **Pureza aparente, real y Clerget**

Purezas en la miel final -melaza-			
No.	Polarización	Clerget	HPLC
	Pureza	Pureza	Pureza
1	32,67	38,13	42,45
2	31,64	38,79	39,81
3	31,55	35,74	39,39
4	31,23	42,30	40,48
5	31,13	39,23	40,23
6	31,28	39,56	40,54
7	30,06	36,31	39,97
8	31,33	38,32	40,96
9	31,25	37,65	40,40
10	29,82	38,88	39,17
11	32,21	40,27	40,89
12	31,90	39,92	41,30
13	31,57	38,34	41,48
14	31,02	38,86	40,20
15	31,32	39,34	40,65

Continuación tabla IV.

Purezas en la miel final -melaza-			
No.	Icumsa	Clerget	HPLC
	Pureza	Pureza	Pureza
16	31,46	38,95	39,12
17	33,59	40,59	42,23
18	33,12	36,43	40,89
19	32,78	36,53	39,39
20	33,56	37,17	43,42
21	33,09	40,03	40,02
22	33,32	36,66	40,61
23	33,54	37,52	41,14
24	34,16	38,18	39,96
25	33,78	37,28	40,99
26	32,14	35,28	41,29
27	32,61	36,28	37,72
28	35,63	41,64	41,84
29	35,07	39,24	40,34
30	34,27	39,15	43,50
31	33,75	39,53	45,76
32	37,65	44,58	46,78
33	38,73	43,35	44,21
34	39,37	41,36	44,76
35	39,92	42,78	45,08
36	38,81	42,40	45,75
37	40,08	43,19	47,63
38	38,99	43,08	47,41
39	41,80	45,89	46,64
40	44,33	47,53	48,71

Fuente: elaboración propia con base en anexo 1-6.

- Cálculo de la pureza objetivo de Smith

Tabla V. **Pureza objetivo**

Pureza objetivo	
No.	Pureza objetivo
1	32,39
2	33,20
3	32,92
4	32,30
5	31,93
6	31,56
7	32,22
8	32,20
9	32,49
10	32,26
11	32,24
12	31,75
13	32,10
14	32,22
15	32,11
16	32,26
17	32,17
18	31,93
19	31,98
20	31,90
21	32,10
22	31,28
23	31,01
24	31,73
25	31,92
26	31,59
27	31,91

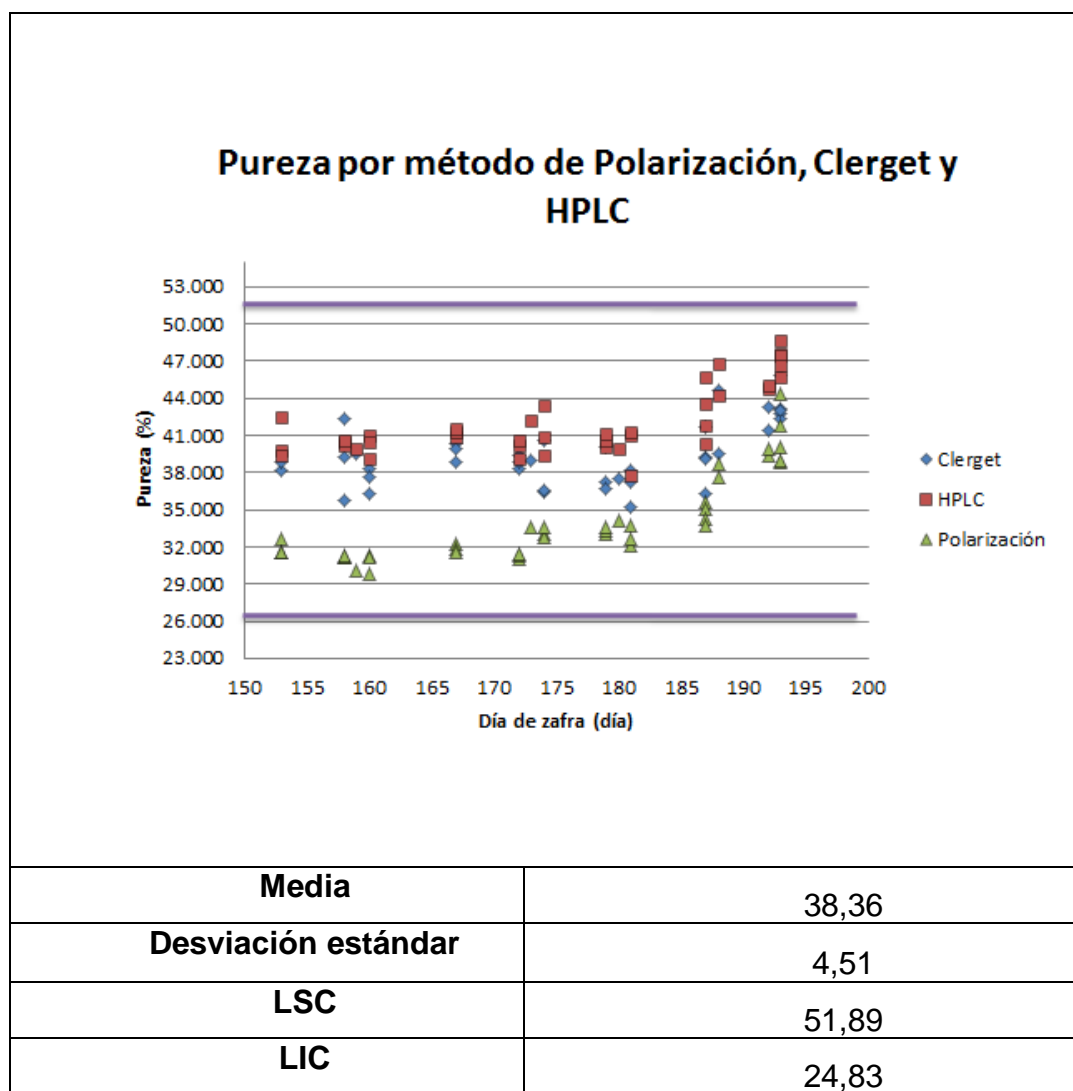
Continuación tabla V.

Pureza objetivo de Smith	
No	Pureza objetivo
28	30,85
29	31,59
30	32,23
31	32,25
32	32,04
33	32,42
34	32,66
35	32,71
36	32,54
37	32,58
38	32,54
39	32,96
40	32,84

Fuente: elaboración propia con base en anexo 7.

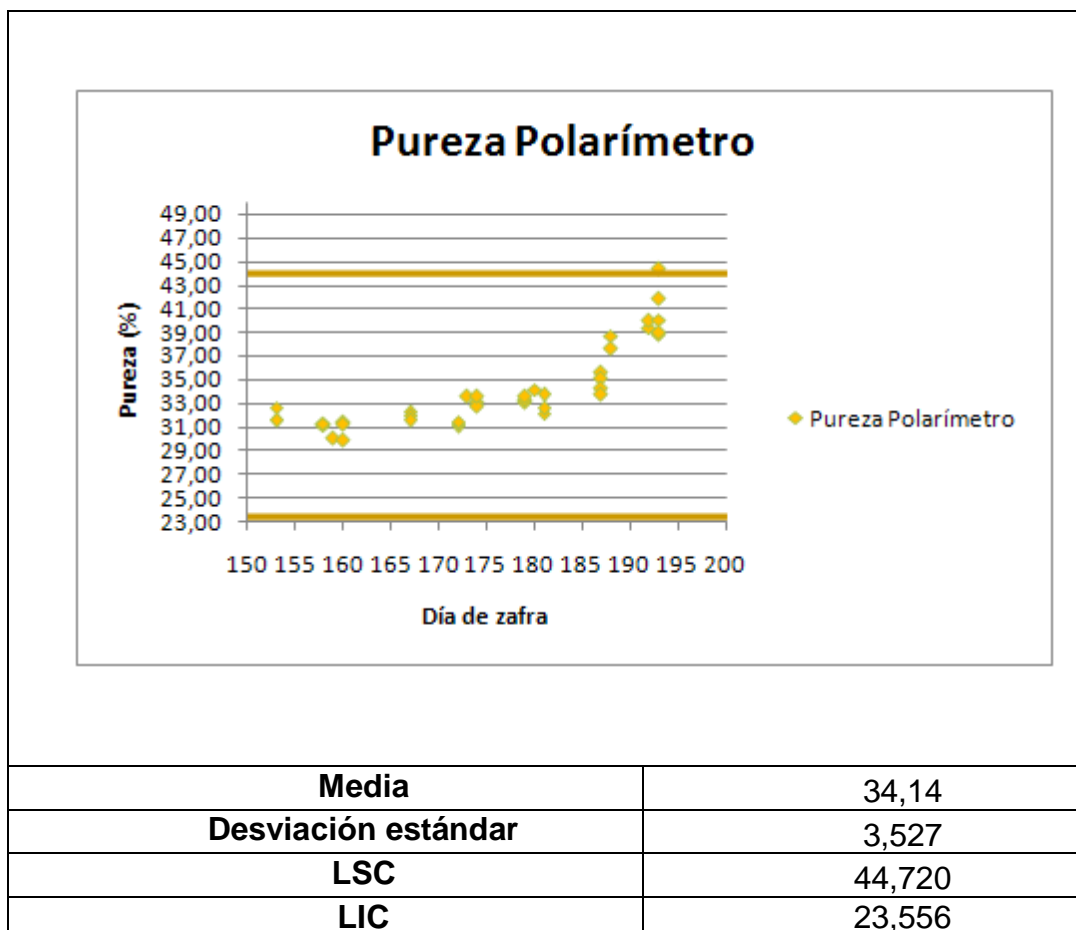
- Diagrama de control para el método de polarización, Clerget y HPLC

Figura 9. **Diagrama de control de pureza para las tres metodologías**



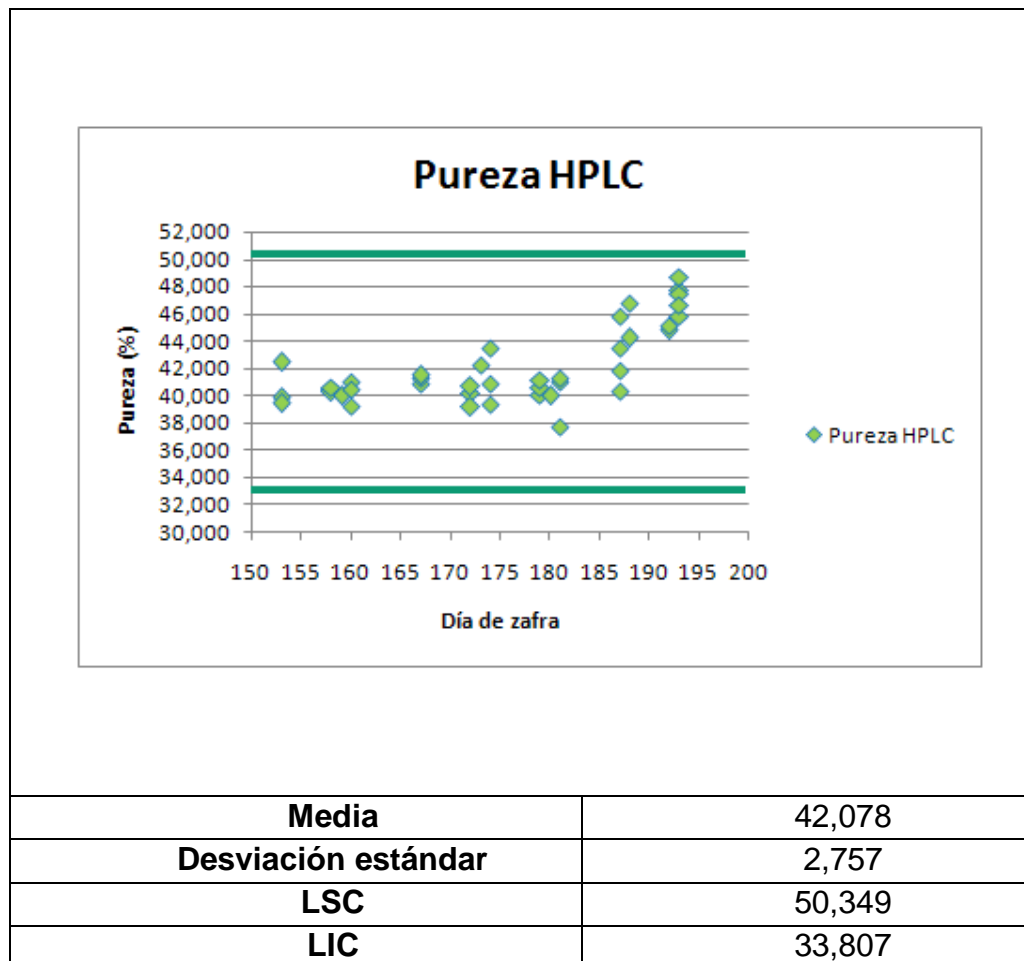
Fuente: elaboración propia.

Figura 10. **Diagrama de control de pureza para la metodología por polarización**



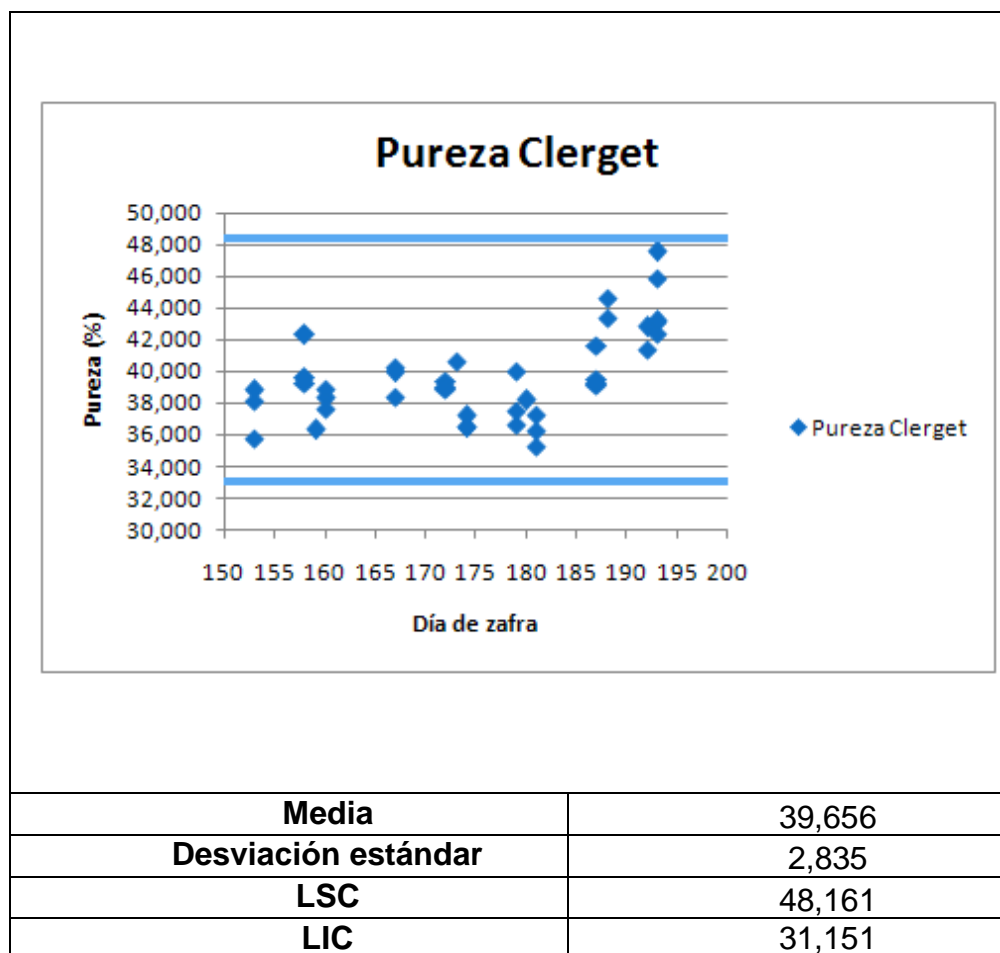
Fuente: elaboración propia.

Figura 11. Diagrama de control de pureza para la metodología por HPLC



Fuente: elaboración propia.

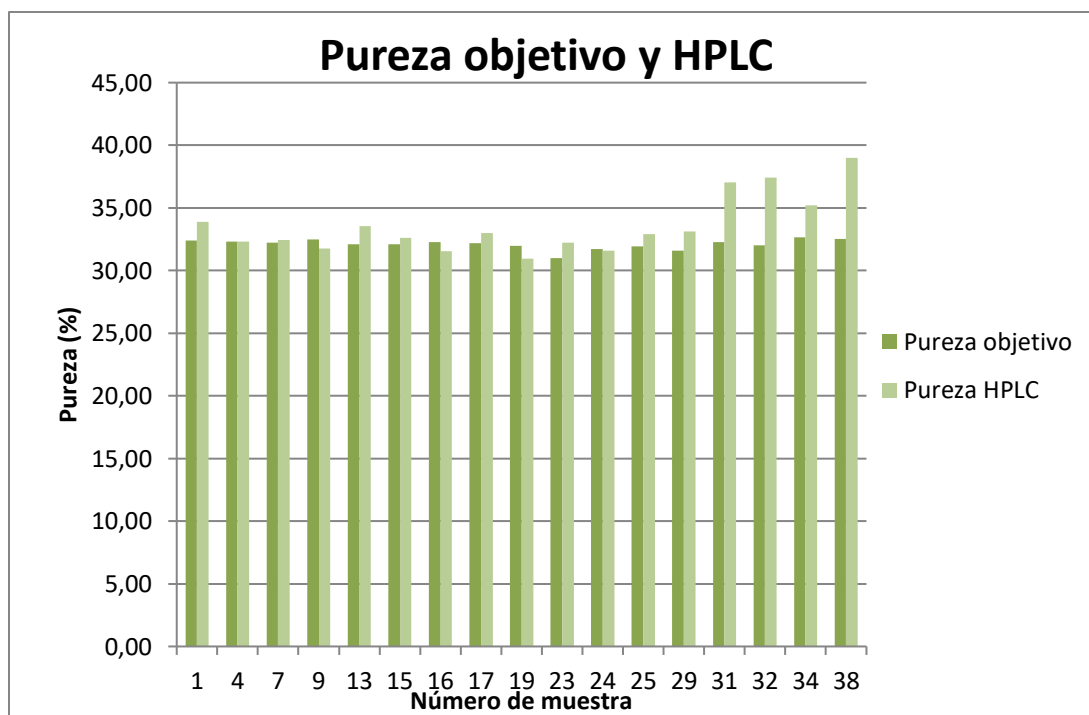
Figura 12. Diagrama de control de pureza para la metodología Clerget



Fuente: elaboración propia.

- Comparación de pureza objetivo y la obtenida por HPLC

Figura 13. **Pureza objetivo y pureza por metodología HPLC**



Fuente: elaboración propia.

- Análisis estadístico de varianzas simples, ANNOVA, para cada método instrumental

Tabla VI. **Análisis de varianza entre Clerget y HPLC**

Anova entre Clerget y HPLC						
Análisis de varianza de un factor						
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Desviación estándar	C. V.	
Clerget	40	1586,238	39,656	2,835	1,629	
HPLC	40	1683,109	42,078	2,757	1,373	
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	117,29	1	117,299	15,00	2,2216E ⁻⁴	3,963
Dentro de los grupos	609,92	78	7,819			
Total	727,22	79				

Fuente: elaboración propia.

Tabla VII. **Análisis de varianza entre Clerget y polarímetro**

Anova entre Clerget y Polarímetro						
Análisis de varianza de un factor						
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Desviación estándar		C. V.
Clerget	40	1586,238	39,656	2,835		1,629
Polarímetro	40	1365,515	34,138	3,527		4,534
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	608,984	1	608,984	59,473	3,39504E-11	3,963
Dentro de los grupos	798,699	78	10,240			
Total	1407,682	79				

Fuente: elaboración propia.

Tabla VIII. **Análisis de varianza entre HPLC y polarímetro**

Anova entre HPLC y Polarímetro						
Análisis de varianza de un factor						
RESUMEN						
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>C.V.</i>	
HPLC	40	1683,109	42,078	2,757	1,373	
Polarímetro	40	1365,515	34,138	3,527	4,534	
ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1260,824	1	1260,824	125,816	6,1289E ⁻¹⁸	3,963
Dentro de los grupos	781,654	78	10,021			
Total	2042,478	79				

Fuente: elaboración propia.

- Análisis de tiempos y costos entre las metodologías Clerget y HPLC

Tabla IX. **Análisis de costos y beneficios para metodologías HPLC y Clerget**

	Análisis de costos y beneficios		
	Costos		
Metodología	HPLC	Polarización	Clerget
Costo del análisis (Q)	49,6	5,45	12
	Tiempo por metodología		
Tiempo (min)	45	30	60
	Beneficios		
HPLC/Clerget	66,13		
Clerget/HPLC	9,00		
	B/C		
HPLC-Clerget	1,333		
Clerget-HPLC	0,75		

Fuente: elaboración propia con base en anexo.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La comparación de distintos procedimientos para obtener la concentración de sacarosa presente en la melaza o miel final se realizó con el objetivo de observar cómo estas metodologías varían a lo largo de la toma de muestras en la zafra 2016-2017 para identificar cuál de estas es más precisa, rápida y factible económicamente. Inicialmente, se calculó la pureza, es decir, la concentración de sacarosa, en la miel final; este cálculo se obtiene a partir del cociente %Pol, porcentaje en peso de sacarosa y los grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$).

El resultado se muestra en la tabla IV, en donde se comparan las metodologías instrumentales analíticas de polarización, Clerget y HPLC, en dicha tabla se observan 40 datos de pureza obtenidos en la zafra 2016-2017.

Para comparar las metodologías, se realizó un diagrama de control respecto a los valores de pureza, el cual se puede observar en la figura 9. Esta figura muestra que el límite de control superior es de 51,89, mientras que el inferior es de 24,83. Dado que las tres metodologías analíticas instrumentales se encuentran dentro de estos límites, se puede afirmar que el proceso se desempeña de forma correcta y se obtienen concentraciones de sacarosa aceptables; es decir, se encuentra sacarosa dentro de los parámetros. Por último, la media para estos datos es de 38,36, mientras que la desviación estándar para es de 4,51.

En la figura 10 se muestra el diagrama de control para el método por polarímetro, en donde el límite de control superior es de 44,720, mientras que el límite inferior de control es de 23,556 y la desviación estándar es de 3,527. Con

esta metodología se detectó que los últimos datos obtenidos en la zafra se encuentran muy cerca del límite superior. Esto indica que los valores de la cantidad de azúcar en la melaza son elevados.

En la figura 11 se muestra el diagrama de control para el método por HPLC donde el límite superior es 50,349, mientras que el límite inferior de control es 33,807 y la desviación estándar es de 2,757. Esta desviación es superior a la obtenida por el método por polarización y Clerget e indica mayor precisión. Igual que en el diagrama anterior, se muestran valores elevados en las últimas muestras, pero estas se encuentran por debajo del LSC, lo cual es aceptable. Estos valores poseen una menor desviación en comparación con el método de polarización, esto muestra que se tienen resultados mucho más precisos.

En la figura 12 se muestra el diagrama de control para el método Clerget, donde el límite superior de control es 48,161, el límite inferior de control es de 31,151 y la desviación estándar es de 2,835. Con esta metodología, igual que con las anteriores, se revelan valores elevados en las últimas muestras. El valor de desviación de estos es más grande en comparación con los resultados obtenidos por HPLC y menor que los valores obtenidos por medio de la polarización. Por lo tanto, esta metodología es mucho más precisa que la polarización.

Es importante mencionar que todas las metodologías presentaron valores elevados en las últimas muestras, indicando que existió una menor recuperación.

Para conocer si los valores de pureza se encuentran cerca del parámetro guía de sacarosa mínima en la miel final se realizó el cálculo de la

pureza objetivo de Smith y se comparó con las purezas obtenidas por la metodología con HPLC. Las purezas objetivo se muestran en la tabla V y, en ellas, se tomaron en cuenta los diversos azúcares reductores y las cenizas. Estas afectan la operación de agotamiento, es decir, menor cantidad de azúcar en la miel final.

En la figura 13 se observa la comparación de la pureza obtenida por el método de HPLC en comparación con la pureza objetivo. En el gráfico se observa que, en la mayoría de muestras, se encuentran los valores de pureza muy cercanos al valor mínimo el cual debería tener la miel final y en algunas se encuentran valores de pureza por debajo de este valor mínimo. Por lo tanto, este método, igual que los otros es un buen parámetro para el cálculo de sacarosa en la miel final.

En las últimas muestras se presentan valores elevados de pureza, debido a que surgieron problemas, posiblemente en el proceso de centrifugación y cristalización. Es importante señalar que estos datos son solo una muestra de los cuarenta datos tomados en la zafra, para fines ilustrativos y comparativos.

Así mismo, se realizó el análisis de varianzas simples anova, obtenido por la herramienta de Excel. En la tabla VI se compara la metodología Clerget y HPLC y con un $\alpha=0,05$ se rechaza H_0 , por lo que se tiene evidencia estadística para afirmar que existe diferencia entre estas metodologías respecto a la concentración de sacarosa presente en la miel final -melaza-.

En la tabla VII se realizó la comparación entre la metodología Clerget y Polarímetro y con un $\alpha=0,05$ se rechazó H_0 , por lo que se tiene evidencia

estadística para afirmar que existe diferencia entre estas metodologías respecto a la concentración de sacarosa presente en la miel final -melaza-.

En la tabla VIII se realizó la comparación entre la metodología HPLC y Polarímetro y con un $\alpha=0,05$ se rechazó H_0 por lo que se tiene evidencia estadística para afirmar que existe diferencia entre estas metodologías respecto a la concentración de sacarosa presente en la miel final -melaza-.

Por último, se analizaron los tiempos y costos entre las metodologías Clerget y HPLC, estos resultados se muestran en la tabla IX. Según el estudio, la metodología por HPLC se realiza en 45 minutos, mientras que Clerget, en 60. El costo de HPLC es de Q49,60, mientras que Clerget Q10,00. Para traducir dicho tiempo en beneficios se calculó la cantidad de dinero que se obtendría si el análisis Clerget se realizara en el tiempo del análisis HPLC, es decir, si este se realizará en 45 minutos. Lo mismo se realizó para comparar el análisis HPLC respecto al análisis Clerget. Con los beneficios ya calculados se determinó la relación B/C y se obtuvo un valor de 1,33 para HPLC y 0,75 para Clerget. Clerget es la opción que posee mayores costos en comparación con sus beneficios y HPLC mayores beneficios en comparación con sus costos.

CONCLUSIONES

1. La pureza real o HPLC es mayor en comparación a las otras purezas calculadas.
2. La pureza Clerget es menor en comparación con la pureza HPLC, pero mayor respecto a la pureza por Polarización.
3. La pureza por polarización es menor en comparación con la pureza Clerget y HPLC.
4. La pureza objetivo presenta los valores mínimos de sacarosa que debe presentar la miel final; estos valores van desde 31,01 hasta 33,20.
5. La pureza obtenida por las tres metodologías se encuentra dentro de los límites de control, por lo tanto, el procedimiento de centrifugación y cristalización se está realizando de forma correcta.
6. La pureza obtenida por el método de HPLC presenta valores similares a los valores de la pureza objetivo de Smith, lo cual indica que la cantidad de azúcar encontrada en la miel final se acerca a la cantidad mínima que debería contener.
7. Al realizar el análisis estadístico se rechazó la hipótesis nula para todos los casos; así mismo, se determinó que la metodología por HPLC es más precisa teniendo una desviación estándar de 2,76, seguido por Clerget con 2,84 y por último polarización con 3,53.

8. El análisis de costo beneficio reveló que la metodología por HPLC posee mayores beneficios en comparación con los costos, por lo tanto, la metodología Clerget no es recomendable, debido a que se requiere más tiempo y es menos precisa.
9. Respecto a los costos, el análisis para HPLC es el más elevado y Polarización el más bajo. Por último, el tiempo para la metodología Clerget es el más elevado y el de Polarización el más corto. Por lo tanto, se elige la metodología por Polarización para la determinación de sacarosa en la miel final por ser de menor costo y mayor rapidez en comparación de las otras.

RECOMENDACIONES

1. Emplear el método por HPLC para la determinación de pureza en la miel final debido a la confiabilidad y exactitud de los resultados para la medición de la pureza en la miel final.
2. Controlar el proceso de centrifugación y cristalización respecto a las mieles producidas.

BIBLIOGRAFÍA

1. CASTAÑER MARTÍNEZ, Juan A. *Análisis de costo beneficio*. [en línea]. <http://gis.jp.pr.gov/Externo_Econ/Talleres/PresentationCB_JP_ETI.pdf>. [Consulta: marzo, 2016].
2. ESTRADA CARDONA, Marvin. *Comparación de cinco métodos analíticos para determinar la calidad de la caña de azúcar*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería. 2012. pp. 31-26.
3. FAJARDO, Erika. *Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de saccharomyces cerevisiae*. Trabajo de graduación de Microbiología Industrial. Pontificia Universidad Javeriana, Colombia, Facultad de Ciencias Básicas. 2007. pp. 22-52.
4. HERRERA ZAMBRANO, Ana Cecilia. *Estudio comparativo de métodos para la determinación de sacarosa y azúcares reductores en miel virgen de caña utilizados en el ingenio Pichicí S.A.* Trabajo de graduación de Tecnología en Química. Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia. Facultad de Tecnologías. 2011. pp. 19-66.
5. WILEY, Johns. *Manual del azúcar de caña*. Limusa. México D.F. 2000. pp. 11-25.

6. LÓPEZ, Byron. *Análisis de mieles finales de ingenios de Guatemala para la zafra 2013-2014 y su comparación con la pureza objetivo por la ecuación se SMITH-VERSION 2015*. Revista XX Congreso ATACA, Guatemala: Cengicaña. 2015. pp. 5-11.

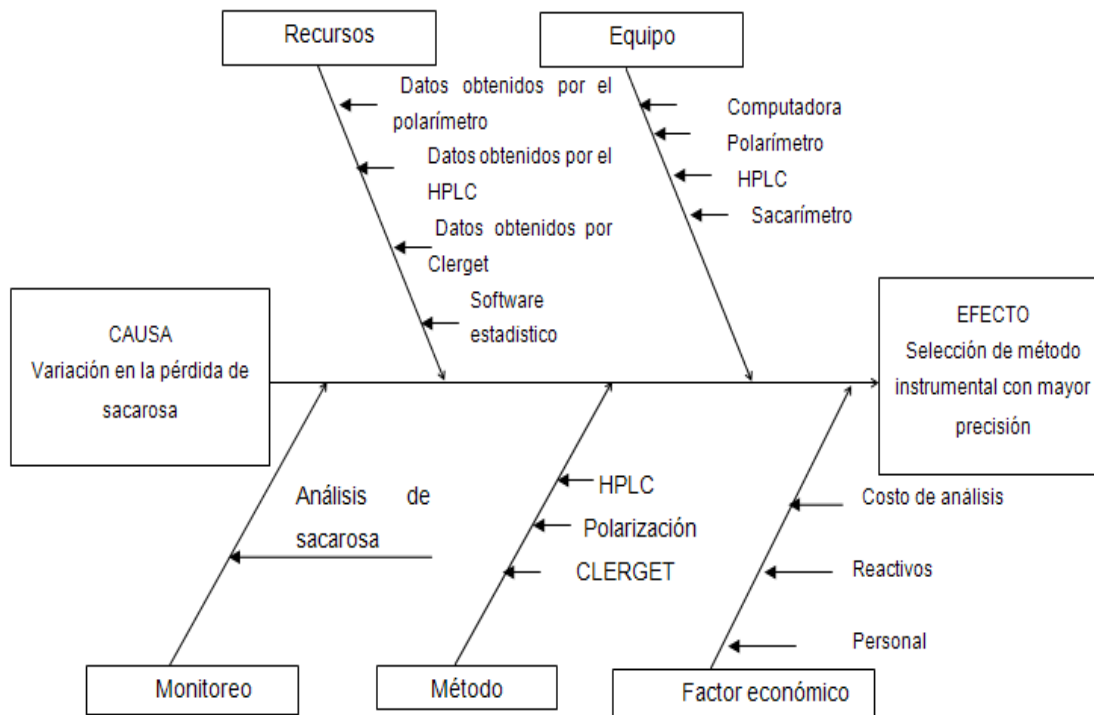
APÉNDICES

Apéndice 1. **Tabla de requisitos académicos**

Carrera	Campos de estudio	Área	Curso	Tema específico	Temática a resolver
Ingeniería Química	Ingeniería y Tecnología	Ciencias básicas y complementarias	Matemática básica 1	* Ecuaciones algebraicas	Interpretación de gráficas
			Estadística 1	* Estadística descriptiva * Variables aleatorias discretas	Cálculo de medias aritméticas
				* Ensayos de hipótesis * Experimentos generales de un solo factor * Modelos de regresión y correlación lineal simple y múltiple	Generación de hipótesis. Análisis de varianza simple Interpretación coeficiente de regresión lineal
		Química	Química Orgánica 2 Análisis instrumental	* Aldehídos y Cetonas	Sacarosa, fructosa y glucosa
				* Cromatografía y componentes de un sistema cromatográfico * Cromatografía en columna	Funcionamiento y conocimiento del HPLC, cromatografía en columna
		Área e especialización	Ingeniería del azúcar	* Composición de la caña de azúcar * Extracción del jugo * Purificación del jugo * Evaporación * Cristalización del azúcar * Centrifugación del azúcar * Control de calidad	Procesos de extracción del azúcar Control de calidad en mieles finales
			Procesos químicos industriales	* Diagramación y herramientas de control de un proceso	Diagrama de Shewart o de proceso
			Ingeniería económica 1	* Análisis de costos	Análisis de costos

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 2. Diagrama de Ishikawa árbol de problema



Fuente: elaboración propia.

ANEXOS

**Anexo 1. Monitoreo de la concentración de sacarosa en la miel final –
melaza- por el método polarización**

Concentración de sacarosa en la melaza						
				Icumsa		
No.	Fecha de producción	Hora	Día de Zafra	Brix	Pol	Pureza
1	07/04/2016	6:00	153	79,84	26,08	32,67
2		7:02	153	81,68	25,84	31,64
3		7:19	153	81,40	25,68	31,55
4	12/04/2016	6:02	158	79,80	24,92	31,23
5		6:31	158	78,52	24,44	31,13
6		7:02	158	79,04	24,72	31,28
7	13/04/2016	14:04	159	81,16	24,40	30,06
8	14/04/2016	6:31	160	78,64	24,64	31,33
9		6:31	160	78,60	24,56	31,25
10		7:06	160	80,48	24,00	29,82
11	21/04/2016	6:00	167	80,72	26,00	32,21
12		6:34	167	80,24	25,60	31,90
13		7:49	167	80,84	25,52	31,57
14	26/04/2016	6:00	172	80,20	24,88	31,02
15		8:09	172	80,20	25,12	31,32
16	26/04/2016	8:54	172	80,60	25,36	31,46
17	27/04/2016	14:03	173	78,12	26,24	33,59
18	28/04/2016	6:58	174	78,98	26,16	33,12

Continuación anexo 1.

Concentración de sacarosa en la melaza						
No.	Fecha de producción	Hora	Día de Zafra	Icumsa		
				Brix	Pol	Pureza
19	28/04/2016	8:50	174	78,58	25,76	32,78
20		11:19	174	77,84	26,12	33,56
21	03/05/2016	11:04	179	77,96	25,80	33,09
22		11:56	179	78,64	26,20	33,32
23		14:09	179	78,36	26,28	33,54
24	04/05/2016	14:05	180	79,04	27,00	34,16
25	05/05/2016	11:50	181	80,28	27,12	29,93
26		13:46	181	80,76	25,96	28,49
27		14:12	181	81,08	26,44	29,42
28	11/05/2016	6:30	187	79,48	28,32	33,10
29		9:43	187	82,12	28,80	32,23
30		11:59	187	81,36	27,88	31,85
31	11/05/2016	14:35	187	80,96	27,32	32,01
32	12/05/2016	11:02	188	80,00	30,12	35,67
33		13:46	188	78,08	30,24	33,85
34	16/05/2016	10:42	192	78,64	30,96	32,52
35		11:59	192	77,36	30,88	33,10
36	17/05/2016	6:00	193	82,36	31,96	34,92
37		8:59	193	81,04	32,48	35,00
38		10:25	193	82,28	32,08	35,45
39		12:04	193	82,00	34,28	37,63
40		13:46	193	77,24	34,24	36,71

Fuente: Laboratorio Ingenio Magdalena.

Anexo 2. **Monitoreo de la concentración de sacarosa en la miel final – melaza- por el método Clerget**

Concentración de sacarosa en la melaza					
				Clerget	
No.	Fecha de producción	Hora	Día de Zafra	Pol	Pureza
1	07/04/2016	6:00	153	30,44	38,13
2		7:02	153	31,68	38,79
3		7:19	153	29,09	35,74
4	12/04/2016	6:02	158	33,75	42,30
5		6:31	158	30,80	39,23
6		7:02	158	31,27	39,56
7	13/04/2016	14:04	159	29,47	36,31
8	14/04/2016	6:31	160	30,13	38,32
9		6:31	160	29,59	37,65
10		7:06	160	31,29	38,88
11	21/04/2016	6:00	167	32,51	40,27
12		6:34	167	32,03	39,92
13		7:49	167	31,00	38,34
14	26/04/2016	6:00	172	31,16	38,86
15		8:09	172	31,55	39,34
16		8:54	172	31,40	38,95
17	27/04/2016	14:03	173	31,71	40,59
18	28/04/2016	6:58	174	28,77	36,43
19		8:50	174	28,70	36,53
20		11:19	174	28,93	37,17
21	03/05/2016	11:04	179	31,20	40,03
22		11:56	179	28,83	36,66
23		14:09	179	29,40	37,52
24	04/05/2016	14:05	180	30,17	38,18

Continuación anexo 2.

Concentración de sacarosa en la melaza					
No.	Fecha de producción	Hora	Día de Zafra	Clerget	
				Pol	Pureza
25	05/05/2016	11:50	181	29,93	37,28
26		13:46	181	28,49	35,28
27		14:12	181	29,42	36,28
28	11/05/2016	6:30	187	33,10	41,64
29		9:43	187	32,23	39,24
30		11:59	187	31,85	39,15
31		14:35	187	32,01	39,53
32	12/05/2016	11:02	188	35,67	44,58
33		13:46	188	33,85	43,35
34	16/05/2016	10:42	192	32,52	41,36
35		11:59	192	33,10	42,78
36	17/05/2016	6:00	193	34,92	42,40
37		8:59	193	35,00	43,19
38		10:25	193	35,45	43,08
39		12:04	193	37,63	45,89
40		13:46	193	36,71	47,53

Fuente: Laboratorio Ingenio Magdalena.

Anexo 3. Monitoreo de la concentración de sacarosa en la miel final – melaza- por el método HPLC y cenizas condumétricas

Monitoreo de Concentración de sacarosa en la miel-melaza-							
No.	Fecha producción	Hora	Día de Zafra	HPLC			Cenizas Condumétricas
				Sacarosa	Glucosa	Fructosa	
1	07/04/2016	6:00	153	33,89	7,17	7,89	11,77
2		7:02	153	32,51	6,77	7,38	12,56
3		7:19	153	32,07	7,11	7,60	12,48
4	12/04/2016	6:02	158	32,31	7,35	8,19	11,99
5		6:31	158	31,58	7,11	7,86	10,90
6		7:02	158	32,04	7,37	8,20	10,70
7	13/04/2016	14:04	159	32,44	7,63	8,51	12,28
8	14/04/2016	6:31	160	32,21	7,37	8,06	11,71
9		6:31	160	31,76	7,13	7,75	11,82
10		7:06	160	31,52	7,60	8,06	11,99
11	21/04/2016	6:00	167	33,01	7,50	8,23	12,01
12		6:34	167	33,14	7,52	8,23	11,15
13		7:49	167	33,53	7,52	8,25	11,77
14	26/04/2016	6:00	172	32,24	7,92	8,08	12,18
15		8:09	172	32,60	7,73	8,01	11,78
16	26/04/2016	8:54	172	31,53	7,46	7,75	11,65
17	27/04/2016	14:03	173	32,99	7,14	8,97	12,16
18	28/04/2016	6:58	174	32,29	7,32	8,92	11,82
19		8:50	174	30,95	7,15	8,94	11,79
20		11:19	174	33,80	8,99	7,58	12,00

Continuación anexo 3.

Monitoreo de Concentración de sacarosa en la miel-melaza-							
No.	Fecha producción	Hora	Día de Zafra	HPLC			Cenizas Condumétricas
				Sacarosa	Glucosa	Fructosa	
21	03/05/2016	11:04	179	31,20	8,96	8,49	13,03
22		11:56	179	31,94	9,07	8,58	11,60
23		14:09	179	32,24	9,15	8,62	11,21
24	04/05/2016	14:05	180	31,58	9,41	8,76	12,81
25	05/05/2016	11:50	181	32,91	9,36	8,72	13,14
26		13:46	181	33,34	9,81	9,25	13,16
27		14:12	181	30,58	8,84	8,25	12,40
28	11/05/2016	6:30	187	33,26	9,62	9,04	11,47
29		9:43	187	33,13	9,58	8,99	12,81
30		11:59	187	35,39	8,86	8,29	13,09
31		14:35	187	37,05	8,59	7,89	12,60
32	12/05/2016	11:02	188	37,42	8,69	8,01	12,35
33		13:46	188	34,52	8,44	7,44	12,46
34	16/05/2016	10:42	192	35,20	8,27	7,17	12,59
35		11:59	192	34,88	7,93	6,93	12,21
36	17/05/2016	6:00	193	37,68	8,65	7,70	13,09
37		8:59	193	38,60	8,25	7,40	12,59
38		10:25	193	39,01	8,31	7,53	12,68
39		12:04	193	38,24	7,71	6,99	12,56
40		13:46	193	37,62	7,11	6,33	11,27

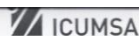
Fuente: Laboratorio Ingenio Magdalena.

Anexo 4. **Análisis de costos y beneficios para metodologías HPLC y Clerget**

Análisis de costos y beneficios			
Costos			
Metodología	HPLC	Polarización	Clerget
Costo del análisis (Q)	49,6	5,45	12
Tiempo por metodología			
Tiempo (min)	45	30	60

Fuente: Laboratorio Ingenio Magdalena.

Anexo 5. Metodología por polarización



Método GS4/7-1(2013)

Determinación de sacarosa aparente en melaza por el método de doble polarización – Aceptado

1 Alcance*

Este método, que puede formar la base de los contratos de compra de melaza, mide la sacarosa en melaza de caña o de remolacha en ausencia de interferencias de la rafinosa, cetosas y sustancias desconocidas que ocasionan un incremento de las sustancias ópticamente activas por hidrólisis. Los estudios de ICUMSA han confirmado que tales interferencias son algo usual, de manera que los resultados obtenidos se denominan "sacarosa aparente". Por tanto, el método pretende asignar un valor a la melaza, en términos del contenido de sacarosa aparente para satisfacer los requerimientos comerciales pero no trata de medir la sacarosa verdadera.

2 Campo de aplicación

El método puede ser aplicado a todas las muestras de melaza (General Subject 4).

3 Definiciones

3.1 Melaza de Caña – es un subproducto de la fabricación del azúcar de caña ya sea crudo o refinado. Es un líquido oscuro altamente viscoso del que no puede cristalizarse más azúcar por los métodos normales.

3.2 Melaza de Remolacha – es un subproducto de la fabricación de azúcar de remolacha ya sea crudo o refinado. Es un líquido oscuro altamente viscoso del que no puede cristalizarse más azúcar por los métodos normales y que contiene un perfil de azúcares diferente del de la melaza de caña.

4 Fundamento

La sacarosa es una sustancia ópticamente activa y como tal puede determinarse en solución midiendo el ángulo de rotación que provoca en la luz polarizada. La estimación de la sacarosa en presencia de otros azúcares puede realizarse por el método de Herzfeld y Clerget de doble polarización. Éste se basa en el cambio de la rotación

óptica cuando la sacarosa se hidroliza en medio ácido. Las medidas se realizan por polarización directa y por polarización después de la hidrólisis.

5 Reactivos y materiales

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS DE SEGURIDAD

SE RECOMIENDA A LOS USUARIOS DE ESTE MÉTODO CONSULTAR SU LEGISLACIÓN DE SALUD Y SEGURIDAD ANTES DE TRABAJAR CON LOS REACTIVOS AQUÍ MENCIONADOS.

Utilizar únicamente agua destilada o agua de similar pureza. Los reactivos deben ser de grado analítico o mejor, a menos que se especifique lo contrario.

5.1 Solución de Acetato de Plomo Básico. Disolver 560 g de acetato de plomo básico en aproximadamente 1 litro de agua destilada. Hervir durante aproximadamente 30 minutos y dejar reposar para que sedimente. Decantar el líquido sobrenadante y diluir hasta un peso específico de 1,24 o 24,4 g de PbO/100 mL de contenido total de plomo con agua destilada recién hervida. Comprobar el contenido total de plomo ya sea midiendo cuidadosamente específicamente peso específico o determinando el plomo total de forma titrimétrica como se describe en el Método GS1/2/3-1. La especificación requiere un contenido de plomo total de $24,4 \pm 1,0$ g PbO en cada 100 mL. El contenido de plomo básico debe estar entre 9,5 y 10,5 g PbO/100 mL. Si la cantidad de plomo básico está por encima de este rango, ajustar el reactivo agregando ácido acético glacial. Tras el ajuste, redeterminar el contenido tanto del plomo total como del plomo básico.

Mantener la solución en un recipiente provisto de un mecanismo de cierre hermético para evitar cualquier contacto con el dióxido de carbono del aire. Eliminar el aire del recipiente con nitrógeno gaseoso antes de cerrarlo.

5.2 Oxalato de potasio u oxalato de sodio.

5.3 Solución de ácido clorhídrico, aproximadamente 2,5 mol/L. Prepararlo tomando 215 mL de ácido clorhídrico concentrado, $\rho_{20} \approx 1,18$ g/mL y diluyendo con agua hasta un volumen de 1 L.

5.4 Zinc en polvo.

5.5 Coadyuvante de filtración de tierra de diatomeas.

* ADVERTENCIA

Los métodos ICUMSA se actualizan frecuentemente siguiendo los desarrollos científicos y técnicos. Por favor, revise en www.icumsa.org > Publications > Individual Methods que el método en uso esté vigente.

Continuación anexo 5.

ICUMSA

5.6 Círculos de papel de filtrado rápido – p. ej. Whatman No. 541 de aproximadamente 18 cm de diámetro o equivalente.

6 Aparatos

6.1 Polarímetro o sacarímetro –calibrado en grados sacarimétricos (°Z).

6.2 Tubos polarimétricos –200 mm o 100 mm de longitud.

6.3 Balanza analítica – con resolución de 1 mg.

6.4 Embudo y receptor del filtrado.

6.5 Baño María – mantenido a $69,0 \pm 0,5$ °C.

6.6 Termómetro – con un rango de 0–100 °C.

6.7 Baño María – mantenido a $20,0 \pm 0,5$ °C.

7 Muestras

7.1 Preparación de muestras. Mezclar la muestra por medio de una agitación cuidadosa.

8 Procedimiento

Pesar una muestra de $65,000 \pm 0,002$ g y transferirla sin pérdida a un matraz aforado de 500 mL, con la ayuda de aproximadamente 100 mL de agua, llevando el volumen hasta 150 mL y mezclar la solución agitando el matraz con un movimiento giratorio.

Agregar 40 mL de solución de acetato de plomo básico (5.1) y mezclar de igual forma que antes.

Enrasar la solución con agua destilada y mezclar suavemente.

Filtrar la solución. Desechar los primeros 10 mL de filtrado y recoger al menos 100 mL de filtrado.

Agregar al filtrado, agitando, suficiente oxalato de potasio seco u oxalato de sodio (5.2) como para precipitar completamente el exceso de plomo. Filtrar la mezcla desechando los primeros 10 mL de filtrado. Si el filtrado permanece turbio podrá ser necesario utilizar una pequeña cantidad de tierra de diatomeas (5.5) para ayudar a la filtración.

Pipetear 50 mL del filtrado a un matraz aforado de 100 mL. Enrasar a una temperatura de $20,0 \pm 0,5$ °C. Leer la polarización, p , en un tubo polarimétrico de 200 mm. Para las soluciones más oscuras puede utilizarse un tubo de 100 mm. Registrar la temperatura, t , a la que se toman las lecturas.

Pipetear otros 50 mL adicionales del filtrado en un matraz aforado de 100 mL y agregar 23 mL de ácido clorhídrico 2,5 mol/L (5.3) y 7 mL de agua.

Insertar un termómetro en el matraz y colocarlo en un baño de agua a 69 °C. Agitar el matraz en el baño de agua durante 5 minutos a partir del momento en que el contenido alcanza $65,0 \pm 0,5$ °C.

Retirar el matraz del baño de agua y enfriar rápidamente bajo agua fría corriente. Sacar el termómetro del matraz, enjuagándolo cuidadosamente dentro del matraz con agua. Enrasar a 100 mL a 20 °C.

Leer la polarización, i , en un tubo de 200 mm. Las soluciones oscuras pueden decolorarse agregando 0,5–1,0 g de zinc en polvo (5.4). Las soluciones muy oscuras pueden diluirse o leerse en un tubo de 100 mm. Si es necesaria la dilución, pipetear 50 mL en un matraz aforado de 100 mL y enrasar. No debe realizarse otra dilución posterior. Observar que la temperatura, t , sea la misma que aquella a la que se determinó la polarización directa, p .

9 Expresión de resultados

9.1 Cálculos. La siguiente fórmula se emplea para calcular el contenido de sacarosa aparente:

$$\text{Sacarosa aparente, \% m/m} = \frac{100 (P - I)}{132,66 - 0,5 (t - 20)}$$

Donde

P es el valor de polarización antes de la inversión
($p \times 4$) para un tubo de 200 mm
($p \times 8$) para un tubo de 100 mm

I es el valor de polarización después de la inversión
($i \times 4$) para un tubo de 200 mm
($i \times 8$) para un tubo de 100 mm

t es la temperatura (°C) a la que se tomaron las lecturas

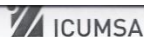
Los resultados debieran ser expresados aproximando al 0,05 %.

9.2 Precisión. El método no ha sido sometido por completo a ensayos colaborativos. Sin embargo, ha sido sometido varias rondas de ensayos de capacidad en azúcar. A partir de esos resultados puede esperarse que la diferencia entre dos resultados obtenidos en un mismo laboratorio no debiera exceder de 1,5 g/100 g en el nivel de 20 g/100 g y 2,5 g/100 g en el nivel de 40 g/100 g.

GS4/7-1 (2013) página 2

Fuente: ICUMSA. Comisión Internacional de Métodos Uniformes para el Análisis del Azúcar.
2009.

Anexo 6. Metodología por HPLC



Método GS7/4/8-23 (2011)

Determinación de fructosa, glucosa y sacarosa por HPLC

– en melaza de caña – Oficial¹

– y sacarosa en melaza de remolacha – Oficial¹

1 Alcance

El método es adecuado para el análisis de sacarosa, glucosa y fructosa en melaza de caña y para la determinación de sacarosa en melaza de remolacha (General Subjects 7, 4 y 8).¹

2 Campo de aplicación

Este método fue desarrollado y obtuvo estatus de Tentativo en 1986² como un método para determinar sacarosa en melaza de caña y remolacha por medio de HPLC en una resina de intercambio de cationes. Su uso se extendió para cubrir glucosa y fructosa en melaza de caña en el año 1990.³ Se convirtió en Oficial para estos análisis en el año 2002.

En el caso de la Determinación de Fructosa, Glucosa y Sacarosa en Melaza, si el usuario tiene la libertad de elección de método, ICUMSA recomienda que se dé preferencia al Método GS7/4/3-22.

3 Definiciones

3.1 Estandarización. Se preparan alícuotas conocidas de sacarosa, fructosa y glucosa y se analizan por cromatografía. Las masas se dividen por las alturas de los picos para determinar los factores de respuesta para los azúcares.

3.2 Factor de respuesta, K_s . Este factor define a partir de la masa y de la altura del pico de la siguiente manera:

$$K_s = \frac{m_s}{P_s}$$

donde:

m_s = masa de azúcar del patrón
(sacarosa, fructosa o glucosa) en g,
 P_s = altura del pico del azúcar.

3.3 Masa determinada de azúcar, m_{SD} . Se define como:

$$m_{SD} \text{ (en g)} = P_{SD} \cdot K_s$$

donde:

P_{SD} = altura del pico para el azúcar (sacarosa, glucosa o fructosa), determinada en la solución de melaza desconocida.

3.4 % de azúcar en melaza. Se define como:

$$\% \text{ de azúcar en melaza} = \frac{m_{SD}}{m_{\text{muestra}}} \cdot 100$$

donde: m_{muestra} = masa de muestra de melaza.

3.5 Factor de control, C_R . El factor de control se define como:

$$C_R = \frac{\% \text{ de azúcar determinado por HPLC } (m_{SD})}{\% \text{ azúcar en masa } (m_e)}$$

donde: m_e = masa de azúcar en muestra de control.

4 Fundamento

La separación cromatográfica de sacarosa, glucosa y fructosa se logra utilizando cromatografía líquida de alta precisión (HPLC).

Se utiliza, como columna de separación, una resina de intercambio catiónico de base sodio o calcio. Estas resinas presentan propiedades tanto de intercambio de li-gando como de exclusión por tamaño.

La muestra diluida se filtra previamente a su inyección en la columna. Un lazo inyector de muestra o su equivalente se emplea para proporcionar la precisión necesaria.

Dependiendo de su propia geometría, los grupos hidroxilo de los diferentes azúcares interaccionan con los cationes en grados variables, lo que tiene como consecuencia diferentes tiempos de elución.

Esto es cierto principalmente para moléculas de relativamente bajo peso molecular (p. ej. glucosa, fructosa y sacarosa) que pueden penetrar en los poros de la resina y establecer vínculos temporales con los contra-iones. Las moléculas grandes no entran por los poros fácilmente de modo que fluyen más fácilmente.

Se realiza un cromatograma de los componentes separados por refractometría diferencial del efuente de columna. Se obtiene una estimación precisa de la altura del pico para un azúcar por medio de un sistema de integración electrónica, que luego se compara con la altura obtenida para los patrones.

Continuación anexo 6.

ICUMSA

5 Reactivos

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS DE SEGURIDAD

SE RECOMIENDA A LOS USUARIOS DE ESTE MÉTODO QUE CONSULTEN SU LEGISLACIÓN DE SALUD Y SEGURIDAD ANTES DE TRABAJAR CON PENTÓXIDO DE FÓSFORO.

CUANDO SE MANEJE EL APARATO, SIGA LAS INSTRUCCIONES DEL FABRICANTE.

5.1 Agua. Utilizar únicamente agua destilada o agua hervida desionizada, filtrada a través de una membrana de 0,45 µm.

5.2 Fase móvil para resina de base sódica. Disolver 700 mg/L (aproximadamente 0,005 mol/L) de sulfato de sodio y filtrar a través de una membrana de 0,45 µm.

5.3 Fase móvil para resina de base cálcica. Disolver 50 mg/L de la sal cálcica del ácido etilendiamino-tetraacético y filtrar a través de una membrana de 0,45 µm.

5.4 Sacarosa – reactivo de grado analítico.

5.5 Glucosa – reactivo de grado analítico.

5.6 Fructosa – reactivo de grado analítico.

NOTA – secar los tres azúcares en un desecador al vacío a 40 °C sobre pentóxido de fósforo durante toda la noche y conservar en un desecador sobre P₂O₅.

5.7 Pentóxido de fósforo (P₂O₅).

6 Aparatos

6.1 Cromatógrafo líquido de alta precisión. Equipado con detector de índice de refracción.

6.2 Inyector de muestra – generalmente consiste de válvula de inyección de micro-muestras en el que la muestra llena un circuito externo (inyector de lazo de muestra), o inyector de prestaciones equivalentes. Un volumen de 20 µL es adecuado.

6.3 Bomba isocrática de alta presión HPLC – generalmente es una bomba de pistón de doble acción con el objeto de reducir al máximo las pulsaciones y así proporcionar una buena estabilidad del caudal.

6.4 Columna de base calcio o sodio – llena con resina de intercambio catiónico en forma de Ca²⁺ o Na⁺ de un tamaño de partícula = 10–15 µm. Longitud de columna 250–300 mm protegida con una precolumna de 28 mm de longitud (p.ej. Waters Associates Sugar Pak, 300 × 6,5 mm de diámetro interior, Ca²⁺; BioRad Aminex HPX-87C, 300 × 7,8 mm diámetro interior, 8 %, Ca²⁺; Shodex Ionpak S-801/S, 250 × 7,8 diámetro interior, 10 %, Na⁺; BioRad Aminex HPX-87N, 300 × 7,8 mm diámetro interior, 8 %, Na⁺).

6.5 Horno de columnas – capaz de mantener la temperatura estable en el rango de 50 a 90 °C.

6.6 Integrador electrónico – p.ej. HP3396A o Spectra Physics 4920 o un sistema computerizado equivalente en modalidad de altura de picos.

6.7 Accesorios para filtración – filtros para jeringa, de tamaño de poro 0,45 µm y de 25 a 50 mm de diámetro, utilizados conjuntamente con una jeringa hipodérmica.

6.8 Balanza analítica – con resolución de 0,1 mg.

6.9 Viales – que sean sellables.

7 Muestras

7.1 Conservación. Mantener las muestras de melaza en contenedores bien sellados a 4 °C. Para una conservación a largo plazo, mantener congeladas las muestras a –18 °C.

8 Procedimiento

8.1 Preparación de patrones de calibración. Preparar los patrones indicados en la Tabla 1. Disolver las muestras de azúcar seco pesadas con precisión en matraces con agua destilada. Enrasar y mezclar bien las soluciones.

Transferir porciones a viales sellables y almacenar a –20 °C hasta que se necesiten. Mezclar cuidadosamente las soluciones después de descongelarlas y eliminar la condensación de los viales. Filtrar los patrones a través de un filtro de membrana de 0,45 µm antes de la inyección.

Tabla 1
Patrones de calibración (g/100 mL)

Tipo de azúcar	Patrón		
	S1	S2	S3
Sacarosa	0,25	0,31	0,37
Fructosa	0,04	0,08	0,11
Glucosa	0,03	0,06	0,09

NOTA 1 – Es posible el almacenamiento congelado de los patrones de calibración sin conservantes químicos por períodos de un mes como mínimo.

NOTA 2 – Los tres patrones de calibración cubren el rango esperado para los tres azúcares presentes en la melaza de caña.

8.2 Preparación de la muestra. Disolver en una pequeña cantidad de agua destilada una muestra de aproximadamente un gramo de melaza de caña, o 0,75 g de una muestra de melaza de remolacha (pesada con precisión). Transferir cuantitativamente la mezcla a un matraz afo-

Continuación anexo 6.

rado de 100 mL. Enrasar y mezclar bien la solución. Filtrar la solución a través de una membrana de 0,45 µm provista de prefiltro y analizar en el transcurso de las siguientes 2 horas. Si ello no es posible, conservarla igual que se hace con los patrones. Preparar dos réplicas para cada muestra de melaza.

NOTA – Si se dejan reposar las soluciones durante más de dos horas, puede producirse inversión.

8.3 Operación del HPLC

- **Condiciones del HPLC.** Las condiciones cromatográficas seleccionadas dependen de un número de factores que incluyen el tamaño de partícula y grado de entrecruzamiento, diámetro y longitud de columna, contra-ión, caudal de eluyente, temperatura, sensibilidad del detector, etc. Las siguientes condiciones de HPLC son las líneas maestras, pero cada sistema deberá optimizarse individualmente.

Caudal de eluyente de 0,5 a 0,6 mL/min (presión ≤ 4 Mpa).

Comúnmente se utilizan temperaturas de entre 50 y 65 °C para columnas basadas en sodio, en tanto que normalmente se emplean temperaturas de entre 80 a 85 °C para las columnas basadas en calcio.

Para la detección, utilizar la máxima sensibilidad del equipo para reducir la concentración y el volumen de la solución inyectada. Registrar el ruido de fondo antes de inyectar la muestra. A caudales menores, el registrador de índice de refracción del tipo de deflexión puede presentar una depresión negativa inmediatamente después de los picos más altos. Esto se corrige ajustando la máscara del espejo del refractómetro, incluso si la sensibilidad se reduce. El no hacer lo anterior puede tener como consecuencia errores de medida.

El modo de detección debiera ser el de refractometría diferencial con una sensibilidad a escala completa, típicamente 1×10^{-5} . El control de temperatura debiera estar idealmente a 35 °C con estabilidad de 0,01 °C.

NOTA – Registrar la distorsión a elevados valores de sensibilidad del índice de refracción antes de cromatografiar las muestras. Esto permite detectar burbujas o polvo en la celda de lectura y actúa como punto de referencia frente al que medir un rendimiento general.

- **Integración.** Es esencial utilizar un integrador electrónico con objeto de alcanzar la precisión requerida. Los polisacáridos, sales y otras sustancias interferentes hacen difícil lograr una buena definición y separación en la línea de base de azúcares en muestras de melaza. Esto es particularmente problemático en modalidad de áreas pico y consecuentemente debe emplearse la modalidad de altura de picos cuando sea posible. La cuantificación de la altura de picos está más libre de interferencias por los picos adyacentes, pero la selección de línea de

base debe ser cuidadosamente controlada para asegurar la uniformidad entre patrones y muestras.

8.4 Inyección de muestras. Realizar primero las tres calibraciones de patrones para establecer linealidad en el sistema. Analizar muestras de melaza duplicadas hasta un máximo de seis muestras de melaza. Analizar nuevamente los tres patrones de calibración para obtener el factor de control. Analizar las siguientes muestras de melaza por duplicado. Continuar este proceso hasta que se hayan cromatografiado todas las muestras. A continuación se sugiere una secuencia de inyección:

- inyectar los tres patrones de una sola vez y calibrar el integrador,
- inyectar las dos réplicas para cada muestra de melaza (por tanto, para seis muestras de melaza habrá $6 \times 2 = 12$ inyecciones),
- reinyectar los tres patrones y utilizar esos patrones como muestras de control.

9 Expresión de resultados

9.1 Calibración. Calcular los factores de respuesta para cada azúcar por medio del patrón de calibración. La desviación estándar relativa con respecto al promedio para los tres factores de respuesta debiera ser menor del 1 y menor del 2 % para sacarosa y para los monosacáridos, respectivamente.

En la Tabla 2 se presentan factores de respuesta típicos.

Tabla 2
Ejemplo de cálculos para HPLC para la determinación de factores de respuesta de sacarosa, glucosa y fructosa

Patrón	Sacarosa (g)	Glucosa (g)	Fructosa (g)
S1	0,2517	0,0317	0,0397
S2	0,3109	0,0604	0,0794
S3	0,3711	0,0809	0,1104

Patrón	Alturas de calibración estándar, unidades		
	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
S1	65214	8007	12105
S2	80403	15400	23990
S3	96549	20434	33600

Patrón	Factores de respuesta estándar, g/unidad		
	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
S1	$3,860 \times 10^{-6}$	$3,959 \times 10^{-6}$	$3,280 \times 10^{-6}$
S2	$3,867 \times 10^{-6}$	$3,922 \times 10^{-6}$	$3,310 \times 10^{-6}$
S3	$3,844 \times 10^{-6}$	$3,959 \times 10^{-6}$	$3,286 \times 10^{-6}$
Promedio	$3,857 \times 10^{-6}$	$3,947 \times 10^{-6}$	$3,292 \times 10^{-6}$
SD	$0,012 \times 10^{-6}$	$0,021 \times 10^{-6}$	$0,016 \times 10^{-6}$
RSD (%)	0,31	0,54	0,48

GS7/4/8-23 (2011) página 3

Continuación anexo 6.

ICUMSA

9.2 % de azúcares en melaza. Calcular el porcentaje de sacarosa, glucosa y fructosa en las muestras de melaza. El valor de la desviación estándar relativa con respecto al promedio de las dos réplicas debiera ser menor del 1 % para sacarosa (usualmente 0,5 %) y menor del 2 % para glucosa y fructosa individualmente (usualmente 1,0 %), ver la Tabla 3 como ejemplo.

Tabla 3
Ejemplo de cálculos de HPLC para la determinación de sacarosa, glucosa y fructosa en melaza de caña

ID Muestra	Muestra de melaza M1 Masa de muestra, g		
Réplica 1	1,0021		
Réplica 2	1,0043		
	Altura de picos, unidades		
	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
Réplica 1	86084	5718	17263
Réplica 2	86874	5845	17554
	% de azúcar en muestra de melaza		
	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
Réplica 1	33,13	2,25	5,67
Réplica 2	33,36	2,30	5,75
Promedio	33,25	2,28	5,71
SD	0,16	0,03	0,06
RSD (%)	0,5	1,4	1,0

Tabla 4
Ejemplo de cálculos de HPLC para la determinación de factores de recuperación

Patrón	Altura de picos, unidades		
	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
S1	65180	8082	12242
S2	81099	15049	24392
S3	96396	20345	33171
Patrón	Masa de azúcar determinada, g		
	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
S1	0,2514	0,0319	0,0403
S2	0,3128	0,0594	0,0803
S3	0,3718	0,0803	0,1092
Patrón	Tasas de control		
	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
S1	0,999	1,006	1,015
S2	1,006	0,983	1,011
S3	1,002	0,993	0,989

GS7/4/8-23 (2011) página 4

9.3 Soluciones de control. Utilizar los tres patrones de calibración inyectados al final de la secuencia como soluciones de control para controlar la distorsión analítica. Calcular las masas de los azúcares sacarosa, glucosa y fructosa y a partir de ellas, los factores de recuperación para cada azúcar. Los factores de recuperación para sacarosa debieran estar en el rango de 0,99 a 1,01 y los factores de recuperación para glucosa y fructosa debieran estar en el rango de 0,98 a 1,02. Si los factores de recuperación se encuentran fuera de estos rangos, deberá repetirse la secuencia de nuevo.

Ver la Tabla 4 para un ejemplo de un control del factor de recuperación.

Precisión.¹ la diferencia absoluta entre dos resultados obtenidos bajo condiciones de repetibilidad para cada azúcar es:

sacarosa	0,8 %
glucosa	0,3 %
fructosa	0,3 %

la diferencia absoluta entre dos resultados obtenidos bajo condiciones de reproducibilidad para cada azúcar es:

sacarosa	1,5 %
glucosa	0,8 %
fructosa	0,8 %

10 Bibliografía

- 1 Proc. 23rd Session ICUMSA, 2002, 253, 258
- 2 Proc. 19th Session ICUMSA, 1986, 127-133, 147
- 3 Proc. 20th Session ICUMSA, 1990, 239-245, 248-253

Fuente: ICUMSA. Comisión Internacional de Métodos Uniformes para el Análisis del Azúcar.
2009.

Anexo 7. Metodología por Clerget

TECNICAÑA - 107

Enfriar la solución a temperatura ambiente.

Secar el vaso en que se pesó la muestra por fuera, colocarlo en la balanza y agregar agua destilada hasta completar 900 gramos. Mezclar bien.

Efectuar la lectura de Brix en el refractómetro.

7.3.2 Resultado.

Obtener el Brix de la muestra original multiplicando el Brix de la dilución por seis.

7.4 Determinación de Sacarosa Clerget.

7.4.1 Reactivos.

Solución de Cloruro de Sodio 3.96 N. Pesar 231.5 gramos de cloruro de sodio NaCl y transferirlos a un frasco volumétrico de 1000 cm³ que contenga aproximadamente 500 cm³ de agua destilada. Mezclar hasta disolver cristales. Completar el volumen con agua destilada y mezclar.

Solución de Ácido Clorhídrico 6.34 N. Adicionar aproximadamente 300 cm³ de agua destilada a un frasco volumétrico de 1000 cm³ y añadir 522 cm³ de ácido clorhídrico mientras agita. Enfriar a temperatura ambiente, completar hasta la marca con agua destilada, mezclar y estandarizar.

7.4.2 Procedimiento.

Tomar 400 cm³ de la solución preparada Brix en un beaker de 600 cm³.

Agregar 24 gramos de Sub-acetato de Plomo, mezclar bien y filtrar en papel filtro con un poco de Supercell. Descartar los primeros mililitros del filtrado.

Polarización directa. Tomar con pipeta volumétrica 50 cm³ del filtrado anterior, transferirlos a un frasco volumétrico de 100 cm³.

Agregar 10 cm³ de Cloruro de Sodio 3.96 N y mezclar bien.

Enrasar a 100 cm³ con agua destilada y agregar unas gotas de alcohol para eliminar las burbujas que se hayan formado. Secar con papel filtro las paredes del cuello del frasco.

Filtrar la solución y descartar los primeros 25 cm³ del filtrado.

Llenar el tubo para polarizar con agua destilada. La lectura debe ser cero por ambos lados. Enjuagar el tubo con un poco de la solución, llenarlo con la solución, cuidando que no queden burbujas de aire. Insertar el termómetro Clerget en el tubo y efectuar

Continuación anexo 7.

108 - TECNICAÑA

la lectura en el polarímetro. Anotar el dato de polarización y temperatura.

- **Polarización Invertida.** Tomar 50 cm³ del filtrado obtenido y transferirlos a un frasco volumétrico de 100 cm³.

Colocar un termómetro de 0 - 100° C en el frasco e introducir éste en un baño de agua caliente. Calentar el contenido del frasco a 65° C.

Una vez alcanzada la temperatura de 65 °C, sacar el frasco del baño y agregar 10 cm³ de HCl 6.34 N. Mezclar el contenido y dejar en reposo durante 30 minutos.

Retirar el termómetro del frasco, lavando cuidadosamente con agua destilada.

Completar el volumen a 100 cm³, lavar las paredes del cuello del frasco y secar luego con papel filtro.

Agitar bien. Si la solución quedó muy oscura, agregar una pequeña cantidad de zinc en polvo. Filtrar, descartando los primeros 25 cm³.

Efectuar la lectura en el polarímetro a la misma temperatura a la que se hizo la polarización directa.

Anotar el dato de polarización y temperatura.

6.7.4.3 Resultado.

La fórmula para determinación de sacarosa Clerget es:

$$100 (D-I) \times \text{factor} \times 6 / (143,23 + 0.0794 (m-13) - 0.53 t)$$

Donde:

D = Polarización Directa.

I = Polarización Invertida.

m = Gramos de sólidos en 100 cm³ de solución usada para la lectura invertida.

t = Temperatura a la cual se efectuaron las polarizaciones.

143.23 + 0.0794 (m - 13) = A1, buscarlo en el Cuadro 11 de acuerdo al Brix.

0.53 t = A2, buscarlo en la Tabla 12 de acuerdo a la temperatura.

(Factor x 6) = A3, buscarlo en la Tabla 13 de acuerdo al Brix.

Fuente: Tecnicaña. Misión Tecnológica a la Industria Azucarera de Guatemala. 2010.

